

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire de fin de cycle
Dans le cadre d'obtention du diplôme Master en Microbiologie
Appliquée au Génie Biologique

Thème

Contribution à l'étude du portage digestif d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu en milieu communautaire. Cas des étudiants résidents dans 4 citées universitaire de la wilaya de Béjaia

Réalisé par :

BOUFASSA Louiza

DAOUD Amina

Membres du jury :

Présidente : Mme ZENATI K. (M.A.B.)

Promotrice : Mme GHAROUT A. (M.A.A)

Examineur : Mr. DJOUDI F. (M.A.A.)

2011/2012

Remerciements

«Louange à Allah, le tout puissant et miséricordieux qui nous a prodigué le courage et la force afin de mener à terme notre travail».

La réalisation de notre étude et la rédaction de notre mémoire ne seraient pas achevées sans l'aide de personnes que nous avons trouvées à nos côtés.

Nous remercions :

- *Notre promotrice, Mme GHAROUT Alima, pour nous avoir encadrées, orientées, et pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous vous souhaitons, madame, que du succès et de bonheur.*
- *Les membres du jury pour l'examination et l'évaluation de notre travail.*
- *La Direction de l'hôpital d'Amizour, pour son accueil au sein de ses locaux sur une période de trois mois et d'avoir mis à notre disposition le personnel et les équipements du laboratoire.*
- *Monsieur Abdeli, Chef de service laboratoire de l'hôpital d'Amizour pour les conseils d'ordres techniques et notre encadrement pendant l'intégralité de la période de stage.*
- *Mrs. Nait Haddad et Mekhlouf pour leurs conseils d'application et les diverses consignes qu'ils ont eu l'occasion de nous inculquer.*
- *L'équipe du laboratoire LMA de l'université (enseignants, doctorants, ingénieurs et étudiants) pour leur soutien et pour le matériel mis à notre disposition.*
- *Tous les étudiants résidents ayant participé à cette étude, en particulier ceux qui ont contribué dans la collecte des échantillons.*
- *Tous ceux et celles qui nous ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de notre mémoire.*

Dédicace

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Les cinq années d'étude universitaire m'ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple. Ce parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans défis et sans soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Je dédie ce travail :

- ✚ A une personne que j'ai tant aimé qu'elle assiste à ma soutenance : le regretté mon cher père ;*
- ✚ A mon adorable mère qui m'a beaucoup donné ;*
- ✚ A mes chers frères : Idris, A. Hakim, A. Rahim, A.Nacer et Abdellah ;*
- ✚ A ma très chère nièces Lina et mon adorable neveu Hamza, ainsi qu'à leur mère wassila ;*
- ✚ Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes, cousins et cousines,*
- ✚ A ma binôme Amina et sa famille ;*
- ✚ A mes très chères copines : Fouzia, Nadjet, Ismahan et Hanane ;*
- ✚ A toute la promotion Master 2 de Microbiologie Appliquée 2011/2012*

Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent. Qu'ils trouvent à travers ce travail ma sincère reconnaissance.

Louiza



Dédicace

Je dédie ce travail à :

✚ Mes très chers parents que j'ai tant aimés avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les avoir. Tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte.

Que ce travail leur apporte joie et fierté et qu'il soit le fruit de leur éducation, conseils et encouragement. Et le cadeau que je puisse leur offrir ;

✚ A mon unique frère Youcef, qui malgré la distance qui nous sépare n'a cessé de me faire partager de ses expériences, aider et encourager. Que dieux te bénisse et te garde pour ta famille ;

✚ A toute ma famille, paternelle ou maternelle, en particulier, mes adorables cousins : Hadjer, Meriem, Younes, Noam, Karima, Fatima et Oussama ;

✚ A mon binôme et à la pensée de son père ;

✚ A mes copines de chambre, pour leur soutien moral, Loubna et Fayrouz ;

✚ A toutes mes amies, Atika, Ahlam, Imane,....

Je n'oublierais pas toute la promotion Master 2 de Microbiologie Appliquée 2011/2012 et tous les camarades de l'université que j'ai côtoyés tout au long de mon cursus.



Amina



- AMC** : Augmentin® (Amoxicilline / Acide clavulanique)
- ATM** : Aztréonam
- BLSE** : β -Lactamases à Spectre Elargi (ou Etendu)
- BMR** : Bactéries Multi-Résistantes
- C1G** : Céphalosporines de 1^{ère} Génération
- C2G** : Céphalosporines de 2^{ème} Génération
- C3G** : Céphalosporines de 3^{ème} Génération
- CAZ** : Céftazidime
- CD** : Code de l'échantillon
- CFA-SFM** : Comité français de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
- CIP** : Ciprofloxacine
- CIT** : Citrate de Simmons
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- CN** : Gentamicine
- CPO** : Céfprome
- CTX** : Céfotaxime
- CTX-M**: Céfotaximase-Munich
- DD-Test**: Double-Disc Test
- DO**: Densité Optique
- EB-BLSE** : Entérobactéries productrices de β - lactamases à spectre élargi
- E-C3G** : Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} Génération
- EMB**: gélose Eosin Methylene Blue
- FEP**: Céfépime
- FOX**: Céfoxitine
- FOX- R**: bactéries résistantes à la céfoxitine
- GLU**: Glucose
- I**: Intermédiaire
- IM** : Imperméabilité Membranaire
- IND**: Indole
- IPM**: Imipénème
- IT**: Residence ITE (ou Aamriw)
- LAC**: Lactose

Liste des abréviations

M: Mille lits

MAN: Mannitol

MH: Mueller Hinton

MOB: Mobilité

NA: Acide nalidixique

NR: Nitrate Réductase

OXA : Oxacillinases

PER : Pseudomonas Extended Resistance

PLP : Protéines Liant la Pénicilline

R : Résistant

RA : Rifampin (Rifampicine)

RM: Rouge de Méthyle

S : Sensible

SHV: Sulfhydrique Variable

SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole

Syn. : synergie

T : Targa Ouzammour

TEM : Temoniera

TSB: Bouillon Trypticase Soja

TSI: Three Sugar and Iron

URE: Uréase

VP: Voges-Proskauer

17 : résidence 17 octobre 1961

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Structure des différents β -lactamines	Annexe I
02	Blocage de la transpeptidase par fixation de l'antibiotique	Annexe I
03	Inactivation d'une β -lactamine par une β -lactamase (hydrolyse de l'anneau β -lactame).	07
04	Système d'induction de l'AmpC	Annexe I
05	Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflore	Annexe I
06	Réseau de transmission de la résistance de l'animal à l'homme.	18
07	Répartition des résidents volontaires selon la résidence.	31
08	Répartition des entérobactéries par espèce.	32
09	La résistance aux β -lactamines.	33
10	Image de synergie obtenue pour la souche M35	34
11	11. a : DD-test sur MH avec cloxacilline. 11. b : DD-test sur MH sans cloxacilline.	34
12	Test de Hodge positif pour la souche T77.	35
13	Les phénotypes de résistance probables pour les EB-BLSE isolées.	39
14	La résistance aux quinolones, fluoroquinolones, aminosides et sulfamides.	41
15	La répartition des souches d'EB-BLSE par espèce.	43
16	Le portage d'EB-BLSE selon les résidences.	43

Liste des figures

17	Le portage d'EB-BLSE selon le sexe.	44
18	Le portage EB-BLSE selon l'antibiothérapie.	44

<i>N°</i>	<i>Tableau</i>	<i>Page</i>
I	Relation entre la classification moléculaire d'Ambler et celle fonctionnelle de Bush et <i>al.</i>	10
II	Différentes classes des carbapénèmases avec leurs profils d'hydrolyse et d'inhibition	Annexe II
III	Liste des milieux de cultures (solides et liquides) et réactifs utilisés.	22-23
IV	Liste des antibiotiques utilisés durant cette étude.	27
V	Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI.	29
VI	Nombre de prélèvement par sexe selon la résidence	32
VII	Comparaison entre les diamètres (mm) des zones d'inhibition sur gélose Mueller-Hinton et Mueller-Hinton additionné de cloxacilline.	35- 37
VIII	Phénotypes les plus probables et critères de distinction.	38
IX	CMI des souches testées à l'égard des 4 antibiotiques testés.	40
X	Tableau résumant le portage fécal des EB- BLSE selon le bloc et l'étage.	45
XI	Fréquence des EB-BLSE selon d'autres facteurs.	46
XII	Fréquence des EB-BLSE selon le sexe.	Annexe VIII
XIII	Fréquence des EB-BLSE selon l'antibiothérapie préalable.	Annexe VIII
XIV	Fréquence des EB-BLSE selon les résidences.	Annexe VIII

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01

Synthèse bibliographique

I. Les β -lactamines	03
I.1. Structure et classification	03
I.2. Mode d'action des β -lactamines	05
II. Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases	06
II.1. Généralités et classification	07
II.2. β -lactamases chromosomiques	11
II.3. β -lactamases plasmidiques	11
III. Dissémination de la résistance	15
III.1. Ecosystème intestinal normal	15
III.2. Transmission de la résistance à l'homme	17
III.3. Impact d'une pression de sélection	19

Matériel et méthodes

I.1. Prélèvements	22
I.2. Milieux de culture et réactifs utilisés	22
I.3. Isolement	23
I.4. Purification et identification	23
II. Etude de la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques	26
II.1. Antibiogramme standard	26
II.2. Recherche de la production de la β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	28
II.2.1. DD-Test (test de synergie)	28
II.2.2. DD-test à la cloxacilline	28
II.3. Recherche de la production des Céphalosporinases plasmidiques	28

II.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu solide.....	29
III. Test de transfert de la résistance par conjugaison	30
IV. Traitement statistique des données	30

Résultats et discussion

I. Caractéristique de la population	31
II. Souches bactériennes isolées	32
III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	33
III.1. Résistances des souches aux bêta-lactamines	33
III.1.1. Recherche de BLSE	34
III.1.2. Recherche de Céphalosporinases plasmidiques.	35
III.1.3. Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines.	38
III.1.4. Détermination des CMI.....	39
III.2 Résistances associées	41
III.2.1. Résistance aux quinolones et fluoroquinolones	41
III.2.2. Résistances aux aminosides	42
III.2.3. Résistance au sulfamide-triméthoprimé	42
IV. Transfert par conjugaison	42
V. Portage digestif d'entérobactéries productrices de BLSE.....	42
V.1. Entérobactéries productrices de BLSE identifiées.....	42
V.2. Portage fécal d'EB-BLSE selon la résidence	43
V.3. Portage fécal d'EB-BLSE selon le sexe.....	43
V.4. Portage fécal d'EB-BLSE selon l'antibiothérapie	44
V.5. Portage fécal d'EB-BLSE selon l'hospitalisation antérieure.....	44
V.6. Portage fécal d'EB-BLSE selon le bloc et l'étage.....	45
V.7. Portage fécal d'EB-BLSE selon d'autres facteurs.....	46
VI. Discussion générale.....	47
Conclusion générale	51
Références bibliographiques	
Annexes	

La découverte de la pénicilline au lendemain de la guerre mondiale avait suscité le grand espoir des maladies infectieuses à jamais jugulées. Malheureusement, l'introduction d'antibiotiques, en particulier les bêta-lactamines, dans la médecine de ville après leur principale utilisation à l'hôpital, fut rapidement suivie par l'apparition de bactéries résistantes. L'introduction ultérieure d'autres antibiotiques (streptomycine, chloramphénicol, tétracycline) fut suivie d'une évolution comparable. En fait si l'usage de plus en plus répandu des antibiotiques a permis la diminution des mortalités dues aux maladies infectieuses, il n'en a nullement modifié la morbidité. L'usage fréquemment abusif des antibiotiques chez l'homme comme chez l'animal et en agriculture est également responsable de l'évolution de la résistance bactérienne. Avec pour conséquences une augmentation d'échec thérapeutique, ce qui représente un défi majeur, voir une menace, à la fois pour la médecine du XXI^{ème} siècle (**Vodovar, 2011**) de part sa progression plus rapide que le développement de nouveaux antibiotiques. Mais aussi sur la santé publique parce que l'exposition aux antibiotiques d'une population humaine ou animale peut avoir des conséquences sur une autre population non encore exposée. En effet, les antibiotiques n'induisent pas la résistance mais, grâce à leur pression de sélection, ils permettent l'émergence des souches résistantes qui, au sein de la flore intestinale normale, seront favorisées par rapport aux souches sensibles.

Ces bactéries deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques et commencent à franchir les limites de l'hôpital pour émerger dans la communauté (**Barbe et al., 2009**). La connaissance des mécanismes biochimiques de la résistance et le support génétique permettent sur le plan médical de guider les choix thérapeutiques et la politique antibiotique.

Ces dernières années ont été marquées par l'expansion, dans le monde entier, de souches bactériennes résistantes par production d'enzymes inactivant les β -lactamines : les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Décrites initialement en milieu hospitalier, ces souches sont maintenant clairement installées en milieu communautaire (**Chavane, 2011**). Suite au contact fréquent de l'Homme avec son environnement, cette installation peut avoir un impact sur l'acquisition de bactéries résistantes de la flore digestif, cela conduit à la colonisation et à la dissémination des bactéries multirésistantes.

La prévalence des porteurs communautaires, par ailleurs sains, varie entre les régions. Une étude réalisée sur 20 enfants d'un village rural au Sénégal retrouvait une prévalence de 10% d'*E. coli* BLSE, dans les coprocultures (**Ruppé et al., 2009**).

En Amérique latine, les études réalisées font état d'une prévalence de 8 % (**Woerther et al., 2010**). En Asie, la situation est plus contrastée avec une prévalence qui varie de 6,4% au Japon (**Luvsansharav et al., 2011a**) à près de 30% en Thaïlande (**Luvsansharav et al., 2011b**). Au Moyen Orient, cette prévalence est de l'ordre de 13% pour les études les plus récentes (**Kader et al., 2007**). Enfin en Europe, la prévalence du portage de bactéries BLSE communautaires varie de 3,6 à 4,2% (**Janvier et al., 2011**). En Algérie, aucune étude n'a été publiée sur le portage digestif d'entérobactéries productrices de BLSE chez des sujets sains.

Compte-tenu des conséquences réelles et potentielles sur la santé publique de l'émergence de la résistance, il nous a paru pertinent, voire intéressant, de réaliser cette étude à visée écologique et épidémiologique au milieu communautaire.

Dans ce contexte, les étudiants résidents dans 4 cités universitaires, pris comme exemple de vie collective, ont fait l'objet de cette étude dans le but d'évaluer le portage digestif asymptomatique d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques au milieu communautaire. Pour ce faire, nous avons opté pour la méthodologie suivante :

- ◆ Isolement et identification d'entérobactéries à partir d'un échantillonnage effectué par prélèvement rectal ;
- ◆ Etude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis des bêta-lactamines et autres familles d'antibiotiques ;
- ◆ Détermination du phénotype de résistance des souches isolées ;
- ◆ Et enfin, discussion générale des résultats obtenus et détermination de quelques facteurs de risque dans l'acquisition de souches d'entérobactéries résistantes par production de β - lactamases à spectre étendu.

I. Les β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en pratique clinique (antibioprophylaxie et antibiothérapie) (**Bassetti et al., 2008**). Cette importante utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et à leur faible coût pour certaines molécules (**Livermore, 1995; Ruppé, 2010**). Elles représentent une vaste famille d'antibiotiques qui possèdent comme structure de base le cycle β -lactame. Et ayant, habituellement, un effet bactéricide temps dépendant conduisant à une lyse bactérienne consécutive à l'activation des enzymes autolytiques de la bactérie (**Drame, 1999**) et un effet post antibiotique faible ou inexistant (**Bibbal, 2008**).

I.1. Structure et classification

Les β -lactamines se caractérisent par la présence d'un élément structural commun : le noyau β -lactame (figure 1, annexe I). Les divers groupements fonctionnels pouvant s'y greffer caractérisent la diversité de ces molécules. La grande famille des antibiotiques β -lactames se subdivise en classes, différenciées au niveau structurel: les pénames, les céphèmes, les pénèmes et les monobactames (figure1, annexe I). Mais aussi, des inhibiteurs de β -lactamines dont certaines structures sont incluses dans les quatre principaux groupes (**Bryksier, 1999**). Elles présentent une analogie structurale (noyau β -lactame) avec le dipeptide terminal D-alanine-D-alanine du pentapeptide constitutif du peptidoglycane (**Nauciel et Vildé, 2005**).

◆ Les pénames (Pénicillines)

La classe des pénicillines est dérivée de l'acide amino-6-pénicillanique, sa structure est constituée de trois parties: un noyau thiazolidine fixé sur un cycle azétidinone et d'une chaîne latérale en C-6 qui permet de les différencier (**Bryskier, 1999**). Selon la nature de ses différents substituant, on a défini plusieurs sous-classes, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (amoxicilline et ampicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) et les uréidopénicillines (pipéracilline) (**Ruppé, 2010**).

Le spectre d'activité des pénicillines varie d'une molécule à une autre, tout en agissant sur les bactéries à Gram positif et/ou à Gram négatif. Cependant, les pénicillines originelles n'ont que peu d'effet sur les bactéries à Gram négatif, parce qu'elles traversent difficilement la membrane externe (**Singleton, 2005**).

◆ Les céphèmes (Céphalosporines)

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporanique ou 7-ACA (noyau céphème), qui distingue les céphalosporines des pénicillines. La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les différentes propriétés antibactériennes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables. Selon la nature des substituants R1 et R2 (figure 1, annexe I), on distingue plusieurs types de céphalosporines, de première, deuxième, troisième et quatrième génération et les céphamycines (**Cavallo et al., 2004**).

- Les céphalosporines de première génération : Les C1G (céfaloquine, céfalexine) ont un spectre limité aux cocci à Gram positif, essentiellement les streptocoques et les staphylocoques sensibles à la méthicilline et à quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinase inductible comme *E.coli*, les salmonelles, *Proteus mirabilis* ou *Klebsiella spp.* Elles sont hydrolysées facilement par les β -lactamases acquises (**Cavallo et al., 2004 ; Ruppé, 2010**).

- Les céphalosporines de deuxième génération : Les C2G (céfuroxime, céfamandole) ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Parmi les céphalosporines se situe une sous-famille que sont les céphamycines ou 7-a-méthoxy-céphalosporines, dont la céfoxitine (**Ruppé, 2010**).

- Les Céphalosporines de troisième génération : Les C3G ou oxyimino-céphalosporines (céfixime, céfotaxime, ceftazidime) ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries et sur *Pseudomonas aeruginosa* pour la ceftazidime. Les C3G sont les antibiotiques de choix dans le traitement des infections sévères à entérobactéries (**Ruppé, 2010**). Cependant, en cas d'hyperproduction de céphalosporinases chromosomiques ou de production de β -lactamases à spectre élargi, ces céphalosporines sont inactivées (**Cavallo et al., 2004**).

- Les Céphalosporines de quatrième génération : Les C4G (céfépime et céfpirome) sont des oxyimino-céphalosporines relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases de type AmpC (**Ruppé, 2010**).

◆ Les Pénèmes (carbapénèmes)

Il s'agit d'une vaste famille de produits ayant en commun le noyau pénème qui est caractérisé par la présence d'un cycle penta-atomique insaturé associé au noyau β -lactame (Cavallo et al., 2004). En fonction de l'hétéroatome fixé en position 1, on distingue trois groupes : les pénèmes (1-soufre), les carbapénèmes (5-CH₂) et les oxa-1-pénèmes (Bryskier, 1999). Les carbapénèmes, représentés par l'imipénème, sont les membres les plus puissants de cette famille ; c'est pour cette raison qu'ils sont réservés typiquement pour l'hôpital (Nicolau, 2008). Ce sont des molécules utilisées en dernier recours, sur des bactéries multirésistantes (Ruppé, 2010).

◆ Les monobactames

Ce groupe a été individualisé en 1976. Leur noyau est limité au cycle β -lactame (Cavallo et al., 2004). Ils se caractérisent par une structure monocyclique (hétérocycle azétidinone) différente du double cycle rencontré chez les pénicillines ou les céphalosporines. L'aztréonam, seul monobactame commercialisé, n'est actif que sur les bactéries à Gram négatif (Ruppé, 2010).

◆ Les inhibiteurs de β -lactamases

Les inhibiteurs de β -lactamases sont des molécules de β -lactamines de fortes affinités pour certaines β -lactamases qu'elles neutralisent (Ruppé, 2010). Doués d'une faible activité intrinsèque, ces inhibiteurs ne sont pas employés seuls, mais doivent être associés à d'autres β -lactamines ayant une bonne activité antibactérienne mais hydrolysables par les β -lactamases (Page et al., 1999; Cavallo et al., 2004).

L'acide clavulanique est utilisé avec l'amoxicilline dans l'Augmentin et la ticarcilline dans le Claventin, alors que le tazobactam est utilisé avec la pipéracilline dans la Tazocilline. L'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam ont un spectre d'inhibition limité aux pénicillinases mais une nouvelle molécule, le NXL104, inhibe également les céphalosporinases. Ce nouvel inhibiteur devrait prochainement être commercialisé en association avec la céftazidime (Ruppé, 2010).

I.2. Mode d'action des β -lactamines

Les agents antimicrobiens peuvent nuire aux bactéries pathogènes de différentes façons. Ils peuvent agir par : inhibition de la synthèse de la paroi, des protéines, des acides nucléiques, par perturbation de la structure membranaire ou par antagonisme métabolique.

Les β -lactamines font partie des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi. Ils agissent, sur les bactéries en phase de croissance, en se liant par covalence aux protéines fixatrices de pénicilline (PLP) et en les inactivant, ce qui provoque le blocage de la transpeptidation (figure 2, annexe I). Cette capacité est entièrement dépendante du noyau β -lactame (**Matthew et Muller, 2004**), qui présente une analogie structurale avec le dipeptide terminal D-alanine-D-alanine du pentapeptide constitutif du peptidoglycane. Leur reconnaissance par les transpeptidases et les carboxypeptidases aboutit à la fixation du cycle β -lactame sur le site actif de ces enzymes cibles, qui comporte en général une sérine (**Cavallo et al., 2004**). La conséquence de cette interaction moléculaire est l'inhibition de la biosynthèse et du remodelage du peptidoglycane (**Charpentier et Novak, 2000**) suite à l'ouverture du cycle β -lactame, rupture de la liaison amide et acylation du site actif sérine et la formation d'un complexe covalent inactivant le site actif de l'enzyme, d'où arrêt de la croissance bactérienne (**Cavallo et al., 2004**).

Les β -lactamines ont habituellement un effet bactéricide sur les bactéries sensibles. Ceci résulte d'un effet secondaire, car l'action bactéricide de ces antibiotiques se manifeste le plus souvent par une dégradation du peptidoglycane conduisant à une lyse de la bactérie, soit par libération de substances pariétales telles que les autolysines, ou par un déséquilibre entre une synthèse ralentie du peptidoglycane et une destruction par les autolysines : il en résulte une paroi fragilisée ne résistant pas à la pression osmotique (**Charpentier et Novak, 2000**).

II. Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases

Compte tenu de la complexité du mécanisme d'action, la résistance naturelle ou acquise aux β -lactamines est caractérisée par au moins quatre mécanismes, enzymatiques ou non, qui peuvent par ailleurs être combinés :

- modification de la cible, ce qui génère des PLP mutées et diminution de l'affinité tout en maintenant leur activité biologique normale;
- diminution de la perméabilité de la membrane externe par modification des porines ;
- expression d'une pompe d'efflux actif permettant d'expulser l'antibiotique hors de la cellule ;
- et enfin inactivation enzymatique par des β -lactamases (**Jacob, 2011**).

La production de β -lactamases constitue le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux β -lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif (Philippon et Arlet, 2006 ; Rodriguez et Struelens, 2006).

II.1. Généralités et classification

Les β -lactamases constituent une famille de protéines enzymatiques capables de dégrader ou de modifier les antibiotiques de type β -lactamine avant d'atteindre leur cible (PLP). Elles se lient de façon covalente au cycle β -lactame et hydrolysent ainsi sa liaison amide (Canton et al., 2008). Voir figure 03 ci-dessous.

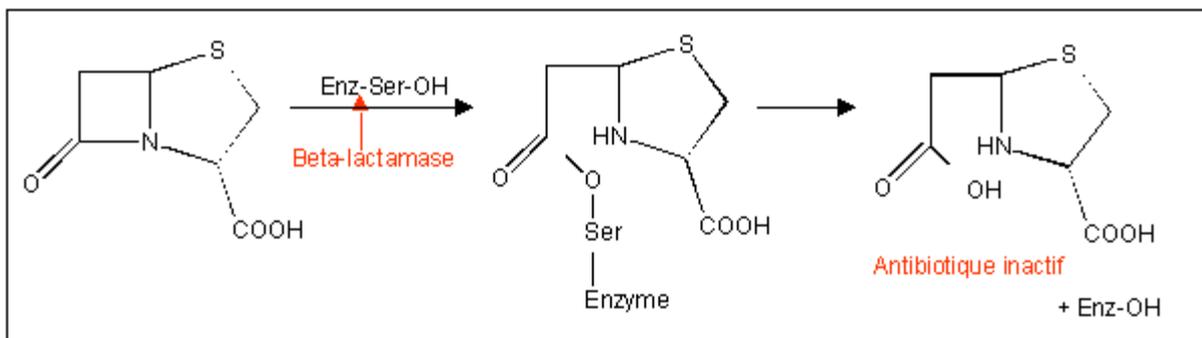


Figure N°03 : Inactivation d'une β -lactamine par une β -lactamase (hydrolyse de l'anneau β -lactame) (Chavane, 2011).

Elles sont sécrétées de manière inductible ou constitutive dans le milieu de culture ou dans le périplasme respectivement par les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Leurs gènes sont portés par le chromosome ou les plasmides et parfois des transposons ou des intégrons (Charlier et al., 1998).

L'introduction des β -lactamines peu hydrolysables comme les céphalosporines de troisième génération et les carbapénèmes, l'imipénème par exemple dans les années 1980-1985, a été suivie d'une émergence continue d'enzymes nouvelles, le plus souvent plasmidiques chez les bacilles à Gram négatif : entérobactéries, *P. aeruginosa*... (Philippon et Arlet, 2006). La dissémination des bêta-lactamases communes et l'apparition de nouvelles enzymes ou d'enzymes mutants est reliée directement à l'utilisation abusive des bêta-lactamines dans le domaine de la santé humaine et animale et en agriculture.

Généralement, les β -lactamases sont classées selon leur structure primaire, c'est la classification structurale d'Ambler (Ambler et al., 1980) ou selon leur spectre et réponse de

substrat aux inhibiteurs, c'est la classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros (Bush et al., 1995) (Jacoby et al., 2005).

II.1.1. Classification d'Ambler

La classification la plus utilisée en clinique est celle d'Ambler. Proposée en 1980, cette première classification, dite structurale, est basée sur la séquence en acides aminés des enzymes, notamment du site actif. Elle individualise quatre classes moléculaires de β -lactamases : A, C et D (appelées enzymes à sérine) et B (dont les enzymes comportent deux atomes de zinc au niveau de leur site actif) (Hall et Barlow, 2005; Jacob, 2011).

•La classe A

Ces enzymes étaient initialement décrites dans des plasmides de bactéries à Gram positif. Cependant, les β -lactamases véhiculées par des plasmides, transposons et chromosomes (VHS, PER, TEM et SHV) de bactéries à Gram négatif ont été rapportées (Kong et al., 2010). Les enzymes formant la classe A sont décrites comme hydrolysant l'ampicilline et la ticarcilline. Elles sont sans action sur les céphalosporines de troisième génération, la céfoxitine et les carbapénèmes. Toutefois, des mutations spontanées conduisant à la surexpression ou introduisant des changements précis dans la structure primaire des β -lactamases peuvent accroître leur activité vis-à-vis de β -lactamines relativement résistantes à l'hydrolyse enzymatique.

C'est pourquoi, dans les années 1990 sont apparues des enzymes dérivant des pénicillinases à spectre étroit, capables d'inactiver des C3G et appelées de ce fait « β -lactamases à spectre étendu» ou BLSE. Les principales enzymes représentantes de ce groupe sont les TEM, SHV et les CTX-M (Pitout et al., 2008).

•La classe B

Les enzymes de la classe B peuvent être inhibées par l'EDTA. IMP-1 est la première métallob β -lactamase décrite chez *P. aeruginosa*. Son gène, *blaIMP* semble être dispersé entre *P. aeruginosa* et les autres bactéries à Gram négatif au Japon. L'intégron à l'origine du gène de la métallob β -lactamase, *blaVIM*, qui a été initialement décrit chez *Pseudomonas aeruginosa* isolées en Italie et sa prévalence constatée en Grèce, engendre la résistance au méropénème et à l'imipénème (Kong et al., 2010).

•La classe C

Les sérines-enzymes de la classe C regroupent toutes les céphalosporinases de type AmpC insensibles à l'acide clavulanique et qui hydrolysent les céphalosporines 5 à 10 fois plus vite que la benzylpénicilline. On distingue les céphalosporinases chromosomiques constitutives ou inductibles et les céphalosporinases plasmidiques (**Kong et al., 2010**).

•La classe D

Les enzymes appartenant à cette classe sont appelées les oxacillinases. En effet, elles sont capables d'hydrolyser l'oxacilline ou encore la méthicilline. Les enzymes OXA sont relativement résistantes à l'inactivation par l'acide clavulanique, mais sont inhibées par le NaCl (**Kong et al., 2010**).

II.1.2. Classification de Bush, Jacoby, Medeiros

La classification de Bush, Jacoby, Medeiros, dite fonctionnelle, plus complète et plus récente, élaborée en 1989, actualisée en 1995 et réactualisée en 2010, est basée sur : les propriétés fonctionnelles des enzymes, sur le spectre de substrats préférentiels de l'enzyme et enfin sur leurs comportements aux inhibiteurs. Cependant, la limite évidente de cette classification est que des mutations ponctuelles des gènes de β -lactamases peuvent modifier significativement les spectres d'activité pour les différents substrats ou pour les inhibiteurs, ce qui n'est pas le cas pour la classification d'Amblar qui reste valable pour les enzymes mutées (**Bush et al., 1995; Jacob, 2011**).

Une relation a été établie entre les deux classifications est donnée dans le tableau N°I.

Tableau N° I : Relation entre la classification moléculaire d'Ambler et celle fonctionnelle de Bush et *al.*, (Bush et Jacoby, 2010).

Groupe de Bush-Jacoby (2009)	Groupe de Bush-Jacoby (1995)	Classe moléculaire d'Ambler	Substrat préférentiel de l'enzyme	Inhibition par		Caractéristiques	Enzymes représentatives
				AC ou TZB	EDTA		
1	1	C	Céphalosporines	Non	Non	- Hydrolyse meilleure des céphalosporines que de la benzylpénicilline; - Hydrolyse des céphamycines	ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1 ^e	NI	C	Céphalosporines	Non	Non	Hydrolyse accrue de la ceftazidime et souvent autres oxyimino-β-lactamines	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Pénicillines	Oui	Non	Hydrolyse meilleure de la benzylpénicilline que des céphalosporines.	PC1
2b	2b	A	Pénicillines et C1G	Oui	Non	Hydrolyse similaire de la benzylpénicilline et céphalosporines	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Céphalosporines à spectre étendu et monobactames	Oui	Non	Hydrolyse augmentée des oxyimino-β-lactamines	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Pénicillines	Non	Non	Résistance au clavulanate, sulbactam et tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Céphalosporines à spectre étendu et monobactames	Non	Non	- Hydrolyse augmentée des oxyimino-β-lactamines - Résistance aux inhibiteurs de β-lactamines	TEM-50
2c	2c	A	Carbénicilline	Oui	Non	Hydrolyse meilleure pour la carbénicilline	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbénicilline, céfépime	Oui	Non	Hydrolyse de la carbénicilline, céfépime et céfpirome	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacilline	Variable	Non	Hydrolyse de la cloxacilline ou l'oxacilline	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Céphalosporines à spectre étendu	Variable	Non	Hydrolyse de la cloxacilline ou l'oxacilline et oxyimino-β-lactamines	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapénèmes	Variable	Non	Hydrolyse de la cloxacilline ou l'oxacilline et des carbapénèmes	OXA-23, OXA-48
2 ^e	2e	A	Céphalosporines à spectre étendu	Oui	Non	- Hydrolyse des céphalosporines; - Inhibition par le clavulanate, pas par l'aztréonam	CepA
2f	2f	A	Carbapénèmes	Variable	Non	Hydrolyse des carbapénèmes, oxyimino-β-lactamines et céphamycines	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapénèmes	Non	Oui	Hydrolyse à large spectre incluant les carbapénèmes mais pas les monobactames	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapénèmes	Non	Oui	Hydrolyse préférentielle des carbapénèmes	CphA, Sfh-1
NI	4	inconnu					

AC: acide clavulanique, **TZB:** tazobactam, **EDTA:** Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique, **NI:** non inclus

II.2. β -lactamases chromosomiques

Les β -lactamases chromosomiques sont ubiquitaires chez les entérobactéries, excepté *Salmonella* et *P. mirabilis*, mais varient dans la quantité produite, le mode de production et par conséquent dans leur contribution à la résistance aux β -lactamines (**Livermore, 1997**).

II.2.1. Pénicillinases

Les pénicillinases comme leur nom l'indique, sont principalement actives sur les pénicillines, mais aussi à un degré moindre sur les céphalosporines de 1^{ère} génération. La plupart des céphalosporines de 3^{ème} génération comme la céfotaxime, les céphamycines et les carbapénèmes présentent peu ou pas d'interaction avec ces pénicillinases (**Acar et al., 1999**).

II.2.2. Céphalosporinases chromosomiques

Elles sont généralement chromosomiques et spécifiques d'une espèce. Parfois présentes mais non exprimées (comme chez *E. coli*), elles peuvent s'exprimer à bas ou à haut niveau conduisant à des phénotypes de résistance très hétérogènes. Le phénotype «céphalosporinase bas niveau » est, dans la majorité des cas, réprimé chez une bactérie. Il confère une résistance aux aminopénicillines, aux C1G et pour certaines souches aux C2G. Ces enzymes sont inhibées par la cloxacilline mais sont insensibles aux inhibiteurs de β -lactamases (clavulanate, tazobactam et sulbactam) (**Lavigne et al., 2002**).

II.3. Les β -lactamases plasmidiques

II.3.1. β -lactamases de types BLSE

Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne (**Knothe et al., 1983**). Il n'existe pas de définition consensuelle et précise des β -lactamases à spectre étendu. Les BLSE sont définies comme des β -lactamases capables de conférer une résistance bactérienne vis-à-vis des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième génération ainsi que l'aztréonam par hydrolyse de ces antibiotiques. Les BLSE sont sensibles à la présence d'inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique (**Paterson and Bonomo, 2005**). Ce sont des enzymes très épidémiques, ont des caractéristiques et spectres d'activité variés (TEM, SHV, CTX-M, et dérivés) (**Adjidé et al., 2006**).

La révision datant du 13/06/2012 montre que les deux plus grandes familles sont les BLSE de type TEM qui ont atteint TEM-201 et les BLSE de type SHV ayant atteint SHV-166, dérivant toutes de β -lactamases TEM-1, TEM-2 et SHV-1 qui ne sont pas des BLSE (www.lahey.org).

◆ BLSE de type TEM

La première β -lactamase a été découverte au début des années soixante. Elle fut baptisée « TEM » du nom de la patiente grecque (Temoniera) chez qui elle a été isolée pour la première fois. Rapidement une autre β -lactamase de la même famille fut découverte et baptisée TEM-2 alors que la première prenait le nom de TEM-1. Ces deux enzymes différaient par un seul acide aminé. Par la suite d'autres BLSE de types TEM ont été décrites qui dérivent de TEM-1 et TEM-2 par substitution d'un ou de plusieurs acides aminés (**Ruppé, 2010**). Cependant, les enzymes dérivées par mutations permettant d'hydrolyser à la fois les C3G et les inhibiteurs sont de plus en plus fréquentes (**Rodriguez et Struelens, 2006**). Ce type de β -lactamases a été décrit essentiellement chez *E. coli* et *K. pneumoniae* au cours d'épidémies hospitalières, mais également en milieu communautaire (**Chavane, 2011**).

L'émergence des enzymes TEM résistants aux inhibiteurs mais inactif contre les céphalosporines est apparue suite à l'utilisation clinique des combinaisons pénicillines-inhibiteurs de β -lactamases (**Robin et al., 2007**).

◆ BLSE de type SHV

Les β -lactamase de type SHV (sulfhydryl variable) constituent, après le type TEM, le plus grand nombre d'enzymes BLSE, surtout chez *K. pneumoniae*, et étaient encore majoritaires en 2005 (**Chavane, 2011**).

Comme dans le cas des enzymes de type TEM, les enzymes de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1 (**Ruppé, 2010**).

◆ BLSE de type CTX-M

Ce sont des β -lactamases de classe A qui tiennent leur nom de par leur hydrolyse préférentielle du céfotaxime par rapport à la céftazidime (« CTX ») et « M » pour leur lieu d'isolement (Munich) puisque la dénomination CTX était déjà occupée (aujourd'hui TEM-3). Elles n'hydrolysent ni les céphamycines ni les carbapénèmes.

Ces enzymes ne sont donc pas inductibles. On compte aujourd'hui (jusqu'au 13/06/2012) 130 CTX-M (www.lahey.org/studies).

Certains variant de CTX-M ont une activité augmentée sur la céftazidime: les CTX-M-32, -15, -16 et -27 dérivent respectivement des CTX-M-1, -3, -9 et -14 suite à une mutation Asp240Gly (**Philippon et Arlet, 2006**). Ces enzymes sont largement rependues dans le monde.

Il est accepté que les CTX-M dérivent des β -lactamases chromosomiques d'espèces du genre *Kluyvera* (entérobactéries non pathogènes).

Les CTX-M ont été isolées sur tous les continents à des fréquences variables en fonction de l'année d'étude, le pays et le type de patients recrutés. Cette diffusion est qualifiée de pandémie (Canton et Coque, 2006).

◆ BLSE de type OXA

Bien que les BLSE appartiennent le plus souvent à la classe A, plusieurs oxacillines (classe D) ont des propriétés de BLSE. Les β -lactamases de type OXA, hydrolysant particulièrement l'oxacilline, peu inhibées par l'acide clavulanique sont rencontrées essentiellement chez *Pseudomonas* mais aussi chez les entérobactéries (Chavane, 2011).

Elles sont codées par des gènes portés par des éléments mobiles (transposons et intégrons). Il y a (jusqu'au 13/06/2012) 247 BLSE du groupe OXA (www.lahey.org).

◆ Autres types de BLSE peu fréquentes

-PER: Sept enzymes ont été décrites, l'enzyme PER-1, initialement découverte en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie, est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter ssp.*, mais a aussi été détectée chez *S. typhimurium*, *Providencia spp.*, *P. mirabilis*. Cette enzyme confère une résistance aux pénicillines, céfotaxime, céftazidime et à l'aztréonam mais variablement aux carbapénèmes et céphamycines. Son activité est bien inhibée par le clavulanate, sulbactam et le tazobactam (Nass et al., 2008).

-VEB : L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée en 1996 dans une souche d'*E. coli* isolée chez un patient vietnamien, puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande.

VEB-1 confère un haut niveau de résistance à la céftazidime, au céfotaxime et à l'aztréonam et elle est inhibée par les inhibiteurs de β -lactamases, mais aussi par l'imipénème et la céfoxitine (Nass et al., 2008). Six dérivés de VEB-1 ont été décrits (Cattoir, 2008).

-SFO-1 : cette enzyme n'a été identifiée qu'une seule fois en 1988 chez une souche de *E. cloacae* au Japon mais d'une part, elle présente la particularité d'être inductible et d'autre part, d'avoir pour progéniture une entérobactérie d'isolement rare en bactériologie médicale, l'espèce *Serratia fonticola* (Phillipon et Arlet, 2006).

-TLA-1 : cette enzyme a été décrite chez une souche d'*E. coli* isolée au Mexique en 1993 (Nass et al., 2008). TLA-1 hydrolyse préférentiellement la céphaloridine, céfotaxime, céfalotine, benzylpénicilline et céftazidime. L'enzyme est inhibée par le sulbactam, le

tazobactam et l'acide clavulanique. TLA-1 est une nouvelle BLSE de la classe A d'Ambler (Silva *et al.*, 2000).

-BES-1 : cette enzyme n'a été isolée qu'une seule fois à partir d'une souche de *S. marcescens* au Brésil en 1996 (Nass *et al.*, 2008).

-BEL-1 : cette enzyme a été identifiée chez une souche de *P. aeruginosa* en Belgique en 2004 (Nass *et al.*, 2008).

II.3.2. Les céphalosporinases plasmidiques

Ce sont des enzymes de classe C appartenant au groupe fonctionnel 1 résistantes au clavulanate ainsi qu'à la majorité des oxymino-céphalosporines (Livermore, 2008).

Les céphalosporinases de type AmpC présumées être à médiation chromosomique ont été décrites chez de nombreux genres d'Entérobactéries. Elles sont souvent inductibles par l'intermédiaire d'un système de gènes régulateurs faisant intervenir *ampD*, *ampG*, *ampR* (figure 4, annexe I) et des intermédiaires du peptidoglycane (Phillipon *et al.*, 2002). Le déplacement des gènes *ampC* du chromosome vers le plasmide a augmenté la distribution de ce mécanisme de résistance à plusieurs pathogènes nosocomiaux (Coudron *et al.*, 2000). Les souches produisant une AmpC plasmidique peuvent être résistantes à la majorité des bêta-lactamines, céphamycines et aztréonam (Jacoby, 2009), à l'exception des carbapénèmes et des céphalosporines de quatrième génération (Thomson et Moland, 2001).

Les exemples d'AmpC plasmidiques incluent ACC-1, CMY-1, CFE-1, FOX-1, MIR-1, LAT-1 et MOX-1. La majorité des AmpC plasmidiques est constitutive et a des propriétés similaires aux β -lactamases chromosomiques de classe C. D'autres enzymes AmpC plasmidiques inductibles ont été rapportées chez des souches de *K. pneumoniae* de type ACT-1, DHA-1 et DHA-2 (Jacoby, 2009).

II.3.3. Les Carbapénémases

Les carbapénémases représentent la famille la plus versatile des β -lactamases, avec un spectre large supérieur à celui des autres enzymes hydrolysant les β -lactamines (Queenan et Buch, 2007). Ces enzymes sont une source de préoccupation considérable, car elles sont actives non seulement sur les oxymino-céphalosporines et les céphamycines mais aussi sur les carbapénèmes (Jacoby et Munoz-price, 2005; Bassetti *et al.*, 2008).

Elles appartiennent à deux familles moléculaires qui se distinguent par leur mécanisme d'hydrolyse et leur site actif: les carbapénèmases à sérine et les carbapénèmases à zinc (**Queenan et Buch, 2007**).

Les carbapénèmases responsables des CMI élevées aux carbapénèmes appartiennent aux trois classes des β -lactamases : la classe A, B et D (**Moland et al., 2008**). Le tableau N°II (annexe II) résume les différentes classes des carbapénèmases.

III. Dissémination de la résistance

Le risque de passage des bactéries résistantes à l'homme est conditionné par plusieurs facteurs propres aux micro-organismes comme, le taux de résistance à un antibiotique pour une espèce bactérienne donnée, la prévalence (nombre de bactéries porteuses de la résistance par rapport au nombre total étudié), l'incidence (variation dans le temps de la prévalence) ou encore la virulence de la bactérie et leur combinaison (**Faure, 2009**). A cela, s'ajoute le niveau d'exposition des individus aux bactéries résistantes, l'état des défenses immunitaires de l'hôte ou encore l'exposition des individus aux pressions de sélection (**Faure, 2009**), suite à l'utilisation irraisonnée des antibiotiques, soit en médecine humaine qui a probablement un poids aussi important dans l'émergence des résistances, soit en élevage animal ou liée à l'agriculture (**Andremont, 2000**).

Avant de déterminer les modes de transmission de la résistance à l'homme et l'influence de la pression de sélection, il est nécessaire de décrire le réservoir naturel de bactéries chez l'homme qui est la flore intestinale.

III.1. Ecosystème intestinal normal

Le tractus gastro-intestinal est peuplé d'une importante population bactérienne appelée le microbiote intestinal ou écosystème intestinal. Il est considéré comme un organe mature uniquement plusieurs mois après la naissance lorsque la colonisation est complète (**Fan, 2008**).

III.1.1. Établissement de la flore intestinale

A la naissance, le tube digestif est normalement stérile mais il est très rapidement colonisé par les bactéries de l'environnement direct (flore de la mère, notamment) pour atteindre une population comprise entre 10^9 et 10^{11} UFC/g au bout de 48 h dans le côlon. La colonisation s'effectue différemment et la composition de cette population dépend de

plusieurs facteurs, tels que le mode d'accouchement, le type d'allaitement et le degré d'exposition à l'environnement hospitalier (**Bourlioux et al., 2003**).

Chez le nourrisson, la flore microbienne présente une grande variabilité, constituée essentiellement de bifidobactéries, de lactobacilles, d'entérobactéries, d'entérocoques et de bactéroïdes.

Vers l'âge de 2ans, parallèlement à la diversification alimentaire, on observe une modification progressive de la flore qui tend vers celle de l'adulte et que l'on qualifie de "flore normale" (**Bourlioux et al., 2003**). Une perturbation de l'équilibre microbien pendant cette période par divers facteurs comme les conditions de la naissance, la prise d'antibiotiques, une mauvaise alimentation, peut avoir des conséquences importantes à court, mais aussi à long terme (**Rambaud et al., 2004**).

III.1.2. Rôles de la flore intestinale

L'écosystème intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques dont la plupart d'entre elles sont nécessaires et bénéfiques pour le maintien de la santé de l'hôte (**Fan, 2008**). L'importance de l'écosystème intestinal est maintenant reconnue de même que le rôle de l'alimentation dans son implantation et le maintien de son équilibre. La fonction intestinale se fait en harmonie avec une flore bactérienne qui colonise notre tube digestif. Ces milliards de bactéries diverses (dix fois plus que de cellules dans notre corps) vivent en équilibre. Elles nous aident, par exemple, à digérer certaines substances, à fabriquer certaines vitamines, à stimuler le système immunitaire et à dégrader les fibres alimentaires (**Medart et al., 2009**). De plus, la flore du tractus gastro-intestinal exerce une fonction primordiale de protection de l'hôte, effet de barrière intestinale, contre l'envahissement de son tractus digestif par les bactéries entéropathogènes, tout au moins celles qui expriment leur pouvoir pathogène en se multipliant dans la lumière du tube digestif (**Donskey, 2006; Stecher et al., 2008**).

III.1.3. Composition et répartition de la flore intestinale humaine

On peut définir de façon primitive une flore normale par l'ensemble des espèces présentes dans l'écosystème de façon constante et capables de s'y multiplier dans les conditions environnementales du tube digestif. Cependant, il existe de très grandes variations dans les résultats publiés, selon les modes de prélèvement, les méthodes microbiologiques, la présence éventuelle de bactéries d'origine alimentaire, la physiologie intestinale et le contexte environnemental. La répartition de la flore varie selon les segments du tube digestif qui

offrent des conditions physico-chimiques très différentes aux microorganismes qui s'y trouvent. Elle dépend de la teneur du milieu en oxygène, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments disponibles et de la vitesse du transit (rapide de la bouche au caecum, plus lente ensuite) (Fan, 2008).

On distingue alors trois régions de l'environnement gastro-intestinal hébergeant des microflore différentes (figure 5, annexe I):

- Le premier compartiment, **l'estomac**, se caractérise par la présence d'oxygène apporté par la déglutition et par une forte acidité. De ce fait, l'estomac héberge sélectivement les microorganismes acido-tolérants et anaérobies facultatifs comme les lactobacilles, les streptocoques, les levures, etc. avec un taux inférieur à 10^3 UFC/g.

- Dans le deuxième compartiment, **l'intestin grêle**, on observe une variation quantitative (duodénum 10^3 - 10^4 UFC/g, jéjunum 10^4 - 10^6 UFC/g, iléon 10^6 - 10^8 UFC/g) et qualitative : diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies facultatives tels que les lactobacilles, les streptocoques et les entérobactéries et anaérobies strictes notamment les bifidobactéries, les bactéroïdes et les clostridies.

- Dans le dernier compartiment, **le côlon** (dépourvu d'oxygène), le transit digestif est plus lent et la flore microbienne est plus abondante (de 10^9 à 10^{11} UFC/g), représentant 35 à 50 % du volume du contenu du côlon humain. Dans ce compartiment, on distingue 4 types de flore : dominante, sous dominante, résiduelle et fécale.

Le tube digestif est une véritable chambre de fermentation, siège de très nombreuses biotransformations des aliments, où seule l'analyse de la flore fécale permet de donner une vue d'ensemble de l'écosystème intestinal, malgré les limites de détection tout en permettant de retrouver les souches pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'hôte.

III.2. Transmission de la résistance à l'homme

Les bactéries évoluent rapidement non seulement par mutation et multiplication mais également par acquisition de matériel génétique exogène. La résistance par accumulation de mutations est supposée présenter un risque minimum de dissémination des gènes, alors que la résistance par acquisition de gènes exogènes a un fort potentiel de diffusion car elle est dans la plupart des cas portée par des éléments génétiques mobiles.

L'absence d'étanchéité entre les écosystèmes animal - homme - environnement aggrave d'un point de vue santé publique le risque de dissémination de la résistance aux antibiotiques (figure 06).

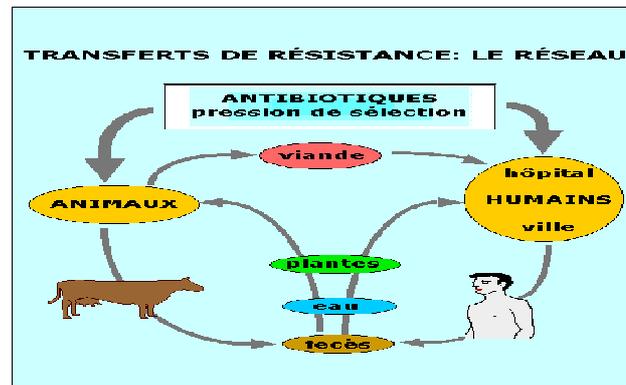


Figure N°06: Réseau de transmission de la résistance de l'animal à l'homme (Fournier, 2003).

Les bactéries résistantes peuvent être transmises de deux manières, par voie alimentaire ou par contact direct avec les animaux.

III.2.1. Transmission directe

Le transfert de bactéries résistantes des animaux à l'homme est bien documenté dans la littérature. L'homme peut acquérir des bactéries résistantes suite à une exposition directe, en élevage. Des enquêtes récentes montrent que les fréquences de portage intestinal d'entérobactéries résistantes à différentes classes d'antibiotiques dont les quinolones et d'entérocoques résistants aux glycopeptides sont significativement plus grandes chez les personnes travaillant dans des élevages que chez des sujets vivant en zone urbaine (Varma et al., 2005).

Mis à part les animaux d'élevage, les animaux de compagnie sont également porteurs de bactéries résistantes notamment par production de BLSE. Ainsi, il est tout à fait envisageable que les sujets ayant des contacts répétés avec les animaux de compagnie porteurs de bactéries résistantes aient une probabilité d'être porteurs eux-mêmes de bactéries résistantes (Faure, 2009).

A cela s'ajoute la transmission, à l'hôpital, entre patients malades porteurs de souches résistantes et le contact direct avec le personnel hospitalier.

Sachant qu'à l'hôpital, l'état immunodéprimé transitoire du patient, ajouté aux traitements antibiotiques peut favoriser la sélection et la colonisation d'un germe infectieux résistant déjà présent chez l'individu (**Faure, 2009**).

Dans la communauté, la circulation des biens, des marchandises et des personnes ainsi que l'absence d'étanchéité entre les écosystèmes sont autant de facteurs pouvant favoriser la transmission des bactéries résistantes aux antibiotiques. Selon un rapport canadien, 44 % des patients identifiés comme porteurs d'une souche d'*E.coli* productrice de BLSE ont été contaminés lors de voyages notamment en Inde, au Moyen-Orient et en Afrique (**Laupland et al., 2008**).

III.2.2. Transmission indirecte via l'alimentation d'origine animale

L'alimentation d'origine animale représente une source démontrée d'acquisition par l'homme de bactéries résistantes (**Aubry-Damon et al., 2001**). Le passage inévitable des bactéries résistantes de l'animal à l'homme n'est pas seulement direct, mais aussi indirect, qui s'opère principalement par la chaîne alimentaire. Le rôle de celle-ci dans la transmission de bactéries résistantes est non seulement possible mais certains arguments attestent de sa réalité pour certains pathogènes comme *Salmonella* (**Faure, 2009**). Certaines bactéries proliférant dans les tubes digestifs des animaux d'élevage vont être rejetées dans l'environnement avec les excréments animaux, pour ensuite contaminer les sols, les eaux ou même la viande lors de l'abatage pour enfin contaminer l'homme. Plus rarement, la contamination peut aussi être directe par ingestion si les bactéries survivent à la cuisson. Une fois en contact avec les bactéries de notre flore intestinale, elles peuvent alors leur transmettre le gène de résistance.

III.3. Impact d'une pression de sélection

La pression de sélection est l'ensemble des conditions de l'environnement qui favorisent l'émergence des bactéries résistantes. Elle est directement liée à la prise d'antibiotiques.

III.3.1. Impact d'un antibiotique sur l'écosystème intestinal et la résistance

L'impact de l'antibiothérapie sur l'écosystème intestinal est universel, quelle que soit l'indication de la prescription et quelle que soit la voie d'administration, orale ou parentérale (**Andremont, 2000**). La fraction de la dose administrée qui est excrétée sous forme active par voie biliaire ou sécrétée par la muqueuse intestinale, à laquelle s'ajoute, en cas d'administration orale, la fraction non absorbée, peut suffire à altérer l'équilibre écologique

de la flore de barrière, la flore commensale, et une élimination des bactéries sensibles.

L'impact du traitement antibiotique sur la flore bactérienne dépend de nombreux facteurs que sont le spectre de l'antibiotique, la dose, la voie d'administration, ses propriétés et sa capacité à être inactivé *in vivo* (Faure, 2009). En effet, lorsque les concentrations d'antibiotiques atteintes dans la lumière intestinale dépassent les concentrations minimales inhibitrices pour les bactéries de la flore, la colonisation et l'implantation dans le tractus digestif de microorganismes exogènes résistants seront favorisées. Cela peut entraîner de lourdes conséquences, essentiellement :

- ◆ **Élimination des entérobactéries sensibles** : il a été toujours mis en évidence qu'une antibiothérapie faisait disparaître les entérobactéries du tube digestif, avec parfois le recrutement de bactéries résistantes. En effet, des études ont montré que chez l'adulte, l'administration de céftazidime entraînait l'élimination des populations d'entérobactéries commensales tout en favorisant la croissance de bactéries résistantes comme *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE ou *Enterobacter spp.*, hyperproducteur de céphalosporinase chromosomique (Faure, 2009).

- ◆ **Destruction des barrières anaérobies** : le deuxième mécanisme de l'effet écologique des antibiotiques sur la flore intestinale est la destruction des effets de barrière (Andremont, 2000).

- ◆ **Sélection d'entérobactéries résistantes** : Les entérobactéries résistantes préexistent souvent à l'antibiothérapie, qui les sélectionne. La présence de ces bactéries résistantes chez les sujets sains pourrait être liée au niveau de consommation d'antibiotiques dans la population à laquelle ils appartiennent. Une fois installée, la résistance bactérienne persiste très longtemps, voire indéfiniment (Andremont, 2000).

- ◆ **Acquisition de résistances chez l'individu** : Les bactéries résistantes peuvent se multiplier dans le tube digestif dans des délais très brefs et redeviennent majoritaire au niveau du tube digestif (Andremont, 2000).

III.3.2. Impact d'un antibiotique sur le transfert des gènes de résistance

La présence d'antibiotiques procure un avantage sélectif aux bactéries portant des gènes de résistance vis-à-vis des souches sensibles. La colonisation et la persistance des souches donneuses ne sont pas un pré-requis pour les échanges génétiques.

Une souche donneuse, même transitée, est capable de transférer ses gènes aux bactéries de la flore intestinale. Dans le cas des entérocoques naturellement présents dans la flore intestinale humaine, le transfert des transposons conjugatifs Tn916-Tn1545 portant le gène de résistance à la tétracycline chez *E. faecalis*, est connu pour être plus efficace en présence de cet antibiotique. En effet, la tétracycline, un antibiotique bactériostatique, inhibe la croissance bactérienne et procure des conditions optimales pour l'implantation des souches résistantes donneuses et des transconjugants. Néanmoins, peu d'études montrent clairement si la présence d'antibiotique favorise la prolifération initiale des bactéries ayant acquis la résistance ou bien si elle augmente le taux de transfert des gènes de résistance (**Faure, 2009**).

L'objectif de cette étude est d'établir la prévalence des sujets sains (étudiants) porteurs d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (EB-BLSE) dans leur flore fécale, en milieu communautaire, plus précisément, chez des étudiants volontaires résidents dans les cités universitaires. L'étude s'est déroulée du 18/02/2012 au 18/05/2012 au niveau des cités universitaires suivantes: Targa Ouzamour, les 1000 lits, 17 Octobre 1961 et la résidence d'Aamriw. Ainsi, les prélèvements effectués sont à visée écologique et épidémiologique. Chaque étudiant résident a rempli un questionnaire (Annexe III) afin de recueillir certaines informations susceptibles d'être utiles pour l'identification des facteurs de risque d'acquisition de ces EB-BLSE.

I.1. Prélèvements

267 écouvillons stériles et questionnaires sont distribués aux des étudiants volontaires au niveau des résidences citées plus haut. Il est demandé à chaque étudiant de remplir ce questionnaire et faire un écouvillonnage rectal. Les écouvillons sont ensuite retournés au laboratoire pour qu'ils soient analysés.

I.2. Milieux et réactifs utilisés

Les milieux de culture et les réactifs utilisés durant notre étude sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° III: Liste des milieux de culture et réactifs utilisés durant cette étude.

Milieux	Utilisation
Bouillon nutritif additionné du CTX (4μg /ml) et de la vancomycine (16 μg/ml)	Isolement des entérobactéries résistantes au CTX et inhibition des bactéries à Gram positif
TSI ou KIA	Etude de l'utilisation des sucres : glucose, lactose, saccharose, et la production de gaz et H ₂ S.
Mannitol-mobilité	Etude de l'utilisation du Mannitol et de la mobilité
Citrate de Simmons	Etude de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone
Bouillon nitraté	Recherche de la nitrate réductase
Urée-indole	Recherche de l'Uréase et la production de l'indole
Clark et Lubs	Etude de la voie fermentative
Gélose Mueller-Hinton	Réalisation de l'antibiogramme standard
Gélose nutritive	Repiquage et conservation des souches isolées
Gélose EMB	Isolement des entérobactéries

Gélose Hektoen	Isolement des entérobactéries
Mc Conkey	L'isolement, repiquage et le test de Hodge
Bouillon Trypticase Soja	Culture des souches réceptrice et donatrice pour le test de conjugaison
Réactifs	Utilisation
NRI et NRII	Révélant de la nitrate réductase
La poudre de zinc	Confirmation du test de la nitrate réductase
H₂O₂	Recherche de la catalase
Réactif de Kovacs	Mettre en évidence la production de l'indole
VPI et VPII	Révélant de la formation d'acétoïne
RM (Rouge de méthyle)	Révélant de la formation d'acides mixtes

I. 3. Isolement

Les écouvillons sont ensemencés dans du bouillon nutritif additionné de deux antibiotiques : Céfotaxime (4µg/ml) qui sert à sélectionner les souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (E-C3G) et la Vancomycine (16 µg/ml) pour éliminer les bactéries à Gram positif. Ensuite, les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h. Les cultures positives sont isolées sur milieu EMB et Hektoen ou Mc Conkey (selon la disponibilité).

Il est à noter que la partie d'ensemencement sur bouillon est effectuée au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (Université de Béjaia) et les autres étapes du travail sont réalisées au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'hôpital d'Amizour.

I.4. Purification et identification

Au terme de la période d'incubation, l'aspect des colonies ayant poussées sur le milieu de culture utilisé est examiné. Si la culture est polymicrobienne, des repiquages successifs sont réalisés afin de purifier les souches isolées.

L'identification des souches d'entérobactéries est réalisée sur la base de : la coloration de Gram, la catalase et la galerie biochimique.

➤ Galerie biochimique

• La recherche de la nitrate 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 nitraté avec la suspension bactérienne, et on incube à 37°C pendant 24 ou 48h. 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 la poudre de zinc au milieu incolore. On agite puis on laisse le tube incliné pendant 5mn. Après ce temps, on observe s'il ya apparition d'une couleur rouge, cela confirme que la souche étudiée ne possède pas une nitrate réductase.

Si le milieu reste incolore, cela indique que la souche étudiée possède, en plus de la nitrate réductase, une nitrite réductase qui réduit le nitrate jusqu'au stade azote atmosphérique N_2 .

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

A partir de la même suspension bactérienne, on ensemence la pente du milieu KIA ou TSI par stries serrées, puis le culot par simple piqûre 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 couleur, 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 du saccharose : couleur jaune au centre du tube

Production d' H_2S : noircissement de tout le milieu ou apparition d'un anneau ou 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 estensemencée par une strie longitudinale le long de la pente de la gélose Citrate de Simmons à partir de la colonie. L'incubation est effectuée à 37°C, la durée va de 24h jusqu'à 7 jours pour certaines bactéries.

L'utilisation du citrate se traduit par une croissance sur la pente et un virage vers une couleur bleu du milieu 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°C pendant 24h. À l'issue de la période d'incubation, le contenu du tube est divisé en 2 et la lecture se fait comme suit :

Tube 1 : on ajoute 5 gouttes de VPI et 5 gouttes de VPII. La suspension est chauffée et laissée 10 mn avant la lecture. L'apparition d'une couleur rouge cerise indique une réaction positive.

Tube 2 : on ajoute quelques gouttes du réactif RM. La lecture est immédiate, un virage au rouge indique une réaction RM positive.

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

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

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

La mobilité est confirmée 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. A partir d'une suspension bactérienne, onensemence le milieu urée-indole. On incube à 37 °C pendant 24 h.

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. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Nous avons testé la sensibilité des souches d'entérobactéries isolées vis-à-vis de différentes β -lactamines, ainsi qu'à d'autres antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton, selon les recommandations du comité Français de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**communiqué du CFA-SFM, 2010**).

II.1. Antibiogramme standard

- **Milieu utilisé**

Nous avons utilisé la gélose Mueller Hinton. L'épaisseur de la gélose est de 4mm. Les boîtes sont ensuite séchées à 37°C/15 à 20mn afin d'éliminer l'excès d'humidité.

- **Inoculum**

A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques ensuite décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne dont l'opacité doit être équivalente à une DO de 0.5 lue à 625 nm. Cette suspension est diluée à 10^{-1} (**communiqué du CFA-SFM, 2010**).

- **Ensemencement**

L'écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne déjà préparée, ensuite le frotter sur la totalité de la surface des boîtes contenant la gélose Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées. Ensuite, on répète l'opération deux fois, en tournant la boîte à chaque fois sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui même, pour finir par le passage de l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Puis, les disques d'antibiotiques à tester sont déposés à la surface de la gélose, à l'aide d'une pince stérile. Enfin, l'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures. Les différents antibiotiques testés durant cette étude sont donnés dans le tableau N°IV.

- **Lecture**

Les différents diamètres des zones d'inhibition obtenues autour des disques sont mesurés pour la lecture. L'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par le CFA-SFM (**communiqué du CFA-SFM, 2010**).

Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition sont données en annexe IV.

Tableau N° IV: Liste des antibiotiques testés durant cette étude

Famille	Antibiotiques	Abréviation	Charge (μg)	Marque
β -lactamine	Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	20/10	Bioanalyse ou Biorad
	Céfoxitine	FOX	30	Bioanalyse
	Céftazidime	CTX	30	Bioanalyse ou Biorad
	Céftazidime	CAZ	30	Bioanalyse ou Biorad
	Céfépime	FEP	30	Biorad
	Céfprome	CPO	30	Biorad
	Imipénème	IPM	10	Bioanalyse ou Biorad
	Aztréonam	ATM	30	Bioanalyse ou Biorad
Aminoside	Gentamicine	CN	10	Bioanalyse
Quinolone	Acide nalidixique	NA	30	Bioanalyse
Fluoroquinolone	Ciprofloxacine	CIP	5	Bioanalyse
Sulfamide	Triméthoprime- sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75	Bioanalyse
Rifampicine	Rifampin	RA	30	Bioanalyse

II.2. Recherche de la production de la β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

Les BLSE ont été recherchées chez toutes les souches isolées.

II.2.1. DD-TEST (ou test de synergie)

La production d'une BLSE a été mise en évidence par le test de synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime, céfotaxime, (30 μg chacun) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline/clavulanate) (20/10 μg).

L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de céftazidime, céfotaxime indique la production d'une BLSE (Jarlier et al., 1988).

II.2.2. DD-test sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline

La présence d'une BLSE peut être masquée par la production d'une céphalosporinase, induite par le clavulanate chez les souches naturellement productrices de cette enzyme tel est le cas pour *Enterobacter cloacae*. Afin d'inhiber l'activité céphalosporinase, le test de synergie est refait sur la gélose Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline (250 ou 500µg/ml selon le niveau de la résistance). La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE ou l'hyperproduction d'une céphalosporinase (Morin et Fosse, 2008).

II.3. Recherche de la production des céphalosporinases plasmidiques

La production de céphalosporinases plasmidiques est systématiquement recherchée chez les souches qui ne sont pas naturellement productrices et qui sont résistantes ou de sensibilité diminuée à la céfoxitine. Dans cette étude nous avons utilisé le test de Hodge modifié pour la détection de ces enzymes.

Une boîte de gélose de Mac Conkey a été inoculée avec une souche *E. coli* ATCC 25922 (sensible à tous les antibiotiques). Un disque de céfoxitine est placé au centre de la boîte. Ensuite, les souches : *E. coli* ATCC 25922, la souche 3005 (résistante à la céfoxitine), et la souche à tester sont ensemencées sur la gélose sous forme de stries à partir du disque de céfoxitine jusqu'à la périphérie de la boîte.

L'incubation est réalisée à 37°C/24h. Un résultat positif du test se caractérise par la formation d'une image de trèfle due à la déformation de la zone d'inhibition à l'intersection entre la strie de la souche à tester et la culture d'*E.coli* ATCC 25922. (<http://www.slideshare.net/doctorrao/hodge-test>).

II.4. Détermination des CMI en milieu solide (CA-SFM, 1995)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) est effectuée pour 32 souches d'entérobactéries. Les antibiotiques testés sont les suivants : la céfoxitine, la céftazidime, le Cefpirome, et l'aztréonam.

Il est à noter que les CMI des souches résistantes à la céfoxitine sont réalisées avec et sans cloxacilline afin d'apprécier les réductions de CMI par cet inhibiteur.

Les dilutions utilisées sont résumés dans le tableau V.

Tableau N° V: Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI (CA-SFM, 1995).

			Concentrations	
Solutions initiales mg/l	Solution mère ml	Volume du diluant (ml)	Concentrations obtenues (mg/l)	Concentrations finales (mg/l)
5120	4	4	2560	256
5210	2	6	1280	128
5210	1	7	640	64
5210	1	15	320	32
320	4	4	160	16
320	2	6	80	8
320	1	7	40	4

- **Préparation des boîtes**

18 ml de milieu Mueller Hinton en surfusion sont additionnés à 2 ml de chacune des différentes concentrations des 4 antibiotiques préalablement déposés dans des boîtes de Pétri. Après homogénéisation, les boîtes sont séchées à l'étuve.

- **Ensemencement**

Une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml est diluée à 1/10, puis 10 μ l de cette dilution est déposé sur le milieu par spot en deux répétitions. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h. La souche *E. coli* ATCC 25922 est utilisée comme témoin négatif.

- **Lecture**

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotiques pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La présence d'une à deux colonies ou d'un film n'est pas prise en considération (CA-SFM, 1995).

III. Transfert par conjugaison

La conjugaison est réalisée pour des souches résistantes à la céftazidime et sensibles à la rifampicine.

Les souches donatrices (résistantes à la céftazidime) et la souche réceptrice *E. coli* C600 (résistante à la rifampicine) sont cultivées dans 10ml de bouillon trypticase soja (TSB), puis incubées une nuit à 37°C sous agitation modérée.

Une dilution au 1/50^{ème} (200 µl dans 10 ml de TSB des souches donatrice et de la souche réceptrice est effectuée. Les dilutions ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 3h sous agitation forte afin d'atteindre la phase d'exponentielle de croissance. A l'issue de cette incubation, dans un erlen stérile 1ml de la culture de souche donatrice, 1ml de la culture de souche réceptrice et 1ml du bouillon TSB neuf sont mélangés et incubés à 37°C pendant 3h.

Le milieu de sélection des transconjugants est représenté par la gélose Mueller Hinton contenant deux antibiotiques : la céftazidime (pour une concentration finale de 8 µg/ml) qui correspond au caractère suspecté plasmidique de la souche donatrice et la rifampicine (pour une concentration finale de 250 µg/ml) qui est un caractère chromosomique de la souche réceptrice.

Des boîtes témoin contenant de la gélose MH additionnée de rifampicine (culture des souches donatrices) et une autre boîte contenant le milieu MH additionné de céftazidime (culture de la souche réceptrice) sont préparées afin de vérifier la sélectivité du milieu.

On étale 200 µl du mélange sur la surface des boîtes de sélection. Afin de vérifier la sélectivité des milieux de sélection, on ensemence la souche donatrice et la souche réceptrice séparément (boîtes témoin). Les boîtes ainsiensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 h. Après incubation, on note la présence des transconjugants dans les boîtes contenant la gélose de sélection. L'étude de la résistance des transconjugants est réalisée par la méthode de l'antibiogramme standard.

IV. Traitement statistique des données

Le test Khi2 (χ^2) est employé pour déterminer si la distribution de deux fréquences est attribuable à l'erreur d'échantillonnage (le hasard) ou est suffisamment grande pour être statistiquement significative. Il est conçu pour la détermination des facteurs de risques.

Durant cette étude qui s'est déroulée pendant une période de trois mois, du 18 février au 18 mai, 267 échantillons (écouvillonnages rectaux) sont collectés chez des étudiants résidants au sein de certaines cités universitaires de l'université A. Mira de la wilaya de Bejaïa.

I. Caractéristiques de la population

- **Selon l'âge**

Durant cette étude, les prélèvements effectués ont touché des étudiants d'âge compris entre 20 et 34 ans, ce qui constitue une seule tranche d'âge (adulte).

- **Selon les résidences**

Les résidences incluses dans cette étude sont : Targa Ouzamour, les 1000 lits, 17 Octobre 1961(17-O-1961) et la résidence d'Aamriw (ITE). Le nombre de prélèvements collectés par résidence est légèrement différent et qui est répartie comme suit :

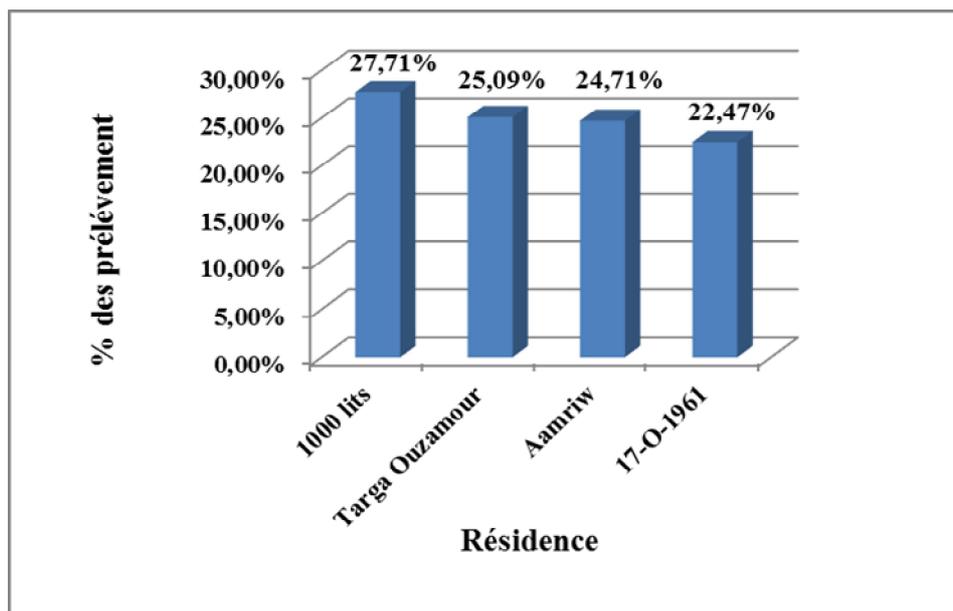


Figure 07: Répartition des résidents volontaires selon la résidence

Le nombre de résidents volontaires le plus élevé est enregistré au niveau de la cité de 1000 lits avec 74 résidents soit 27,71% de la totalité de l'échantillon considéré, suivie par la cité de Targa Ouzamour avec 67 résidents (25,09%), puis la cité d'Aamriw avec 66 résidents (24,71%) et enfin, la cité de 17-O-1961 avec 60 résidents (22,47%).

• **Selon le sexe**

Le nombre de prélèvements effectués n'est pas homogène entre les deux sexes. La population étudiée est caractérisé par un sex-ratio (Femme /Homme) de 1,3 (151/116).

Les prélèvements issus de résidants du sexe féminin représentent 56,55% (151/267) de la totalité des prélèvements, alors que, chez le sexe masculin, le nombre des prélèvements représente 43,45% de la totalité (116/267).

Cette différence est principalement due aux refus reçu de la part des garçons et la difficulté à les convaincre. Notant que l'étude a concerné des étudiants résidants volontaires. Le nombre de prélèvement par sexe et par résidence est donné dans le tableau suivant :

Tableau N° VI : Nombre de prélèvement par sexe selon la résidence

Sexe/résidence	1000 lits	TargaOuzamour	ITE(Aamriw)	17-O-1961
Homme	36	28	30	22
Femme	38	38	37	38
Totale	74	67	66	60

II. Souches bactériennes isolées

Il est à noter que seules les souches appartenant à la famille d'*Enterobacteriaceae* sont étudiées. Les autres bactéries à Gram négatif et à Gram positif ne sont pas prises en considération.

76 souches d'entérobactéries résistantes au CTX à 4µg/ml sont isolées et identifiées, soit 28,46% (76/267) du total des échantillons considérés. La répartition des entérobactéries par espèces isolées est donnée dans la figure ci-dessous.

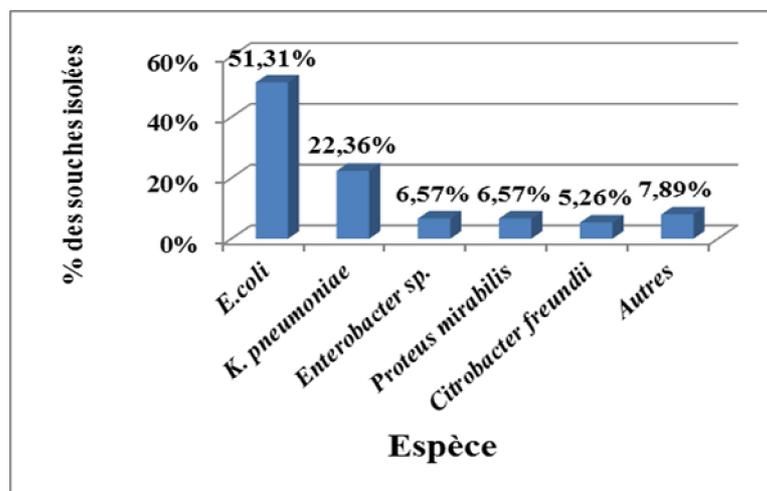


Figure 08 : Répartition des entérobactéries par espèce.

Autres pour : *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* et *Salmonella sp.*

D'après la figure 8, on note la dominance d'*E.coli* avec 39/76 souches soit 51,31% de la totalité des entérobactéries, suivi par *K. pneumoniae* avec 17/76 (soit 19,73%), Les autres espèces sont peu isolées.

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

III.1. Résistance des souches aux β -lactamines

Plusieurs antibiotiques de la famille des β -lactamines ont été testés sur les souches d'entérobactéries isolées.

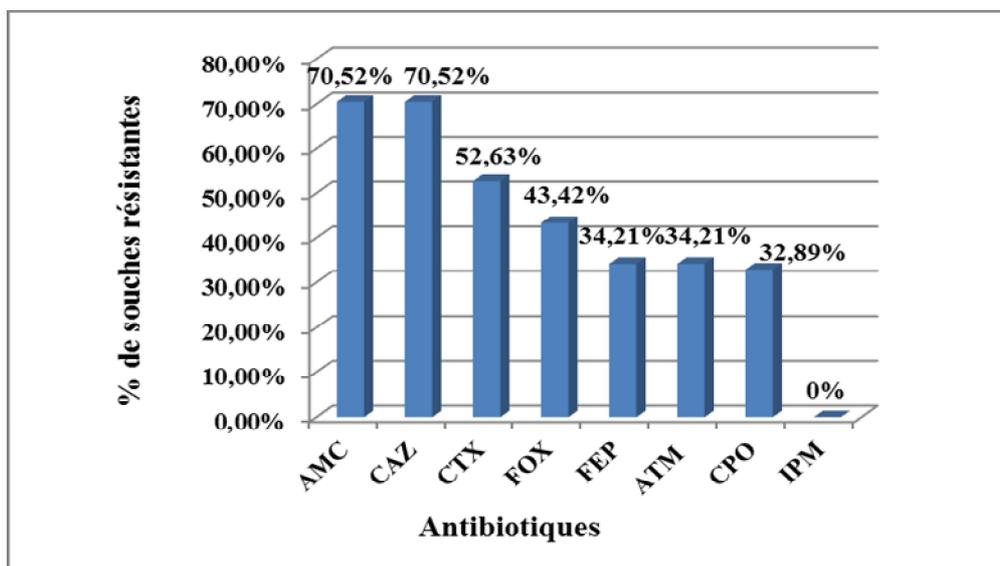


Figure 09 : La résistance aux β -lactamines

Légende : CAZ (Céftazidime), AMC (Amoxicilline + Acide clavulanique), CTX (Céfotaxime), FOX (Céfoxitine), FEP (Céfépime), ATM (Aztréonam), CPO (Céfpriome), IPM (Imipénème).

La résistance vis-à-vis de ces antibiotiques, est importante où 70,52 % (46/76) de cette résistance est enregistré pour la CAZ et l'AMC, suivi par le CTX avec 52,63% (40/76). Aucune résistance n'est enregistrée à l'égard de l'imipénème.

III.1.1. Recherche de BLSE

◆ DD-test

Toutes les souches sont testées pour la production de β -lactamases à spectre étendu en utilisant la méthode du double disque. L'apparition d'une image de synergie indique la production d'une BLSE. Cette image est observée pour 12 souches comme le montre la figure 10 ci-après :

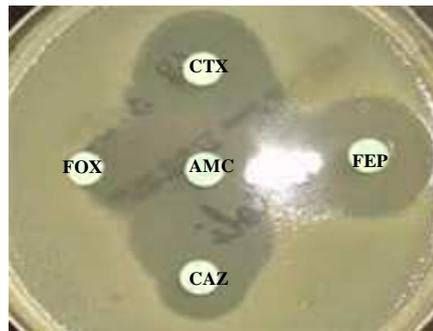


Figure 10 : Image de synergie obtenue pour la souche M35 *Citrobacter freundii*

◆ DD-test sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline

L'image de synergie peut être masquée par présence de l'activité céphalosporinase (chromosomique ou plasmidique), un DD-test est alors effectué sur gélose Mueller-Hinton additionnée de cloxacilline à une concentration de 250 μ g/ml. Les souches testées sont celles qui ne présentent pas d'images de synergie lors du DD-test et sont résistantes à la céfoxitine. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°VII ci-dessous. Le résultat est illustré par la figure 11 suivante (exemple de la souche M15 qui est une *E.coli*):

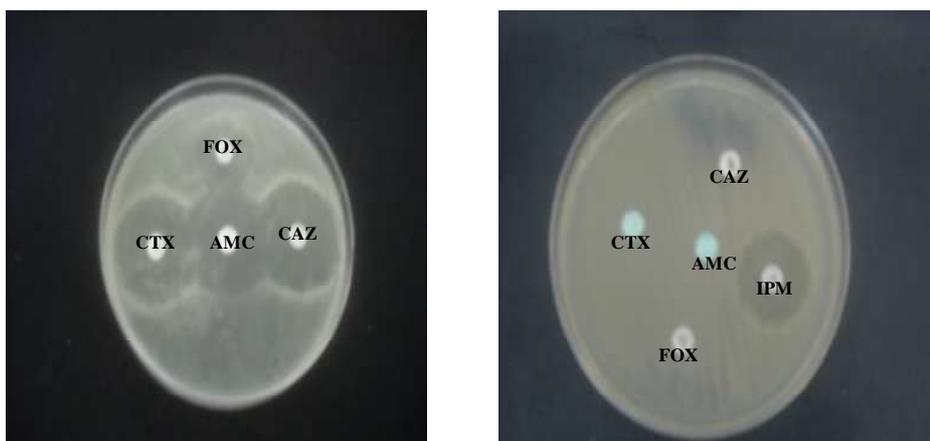


Figure 11.a : DD-test sur MH avec cloxacilline. **Figure 11.b** : DD-test sur MH sans Cloxacilline.

III.1.2. Recherche de Céphalosporinases plasmidiques

L'image de trèfle était bien visible (figure 12) avec 11 souches d'entérobactéries FOX-R testées ce qui indique que ces dernières produisent une Céphalosporinase plasmidique (AmpC plasmidique), par contre aucune image de trèfle n'a été observée avec les autres souches testées. Les AmpC plasmidiques sont révélées chez : 6 *K. pneumoniae*, 2 *E. coli*, et 3 *Proteus mirabilis*, dont 9 souches (81,81%) sont isolées au niveau de la résidence de 1000 lits.

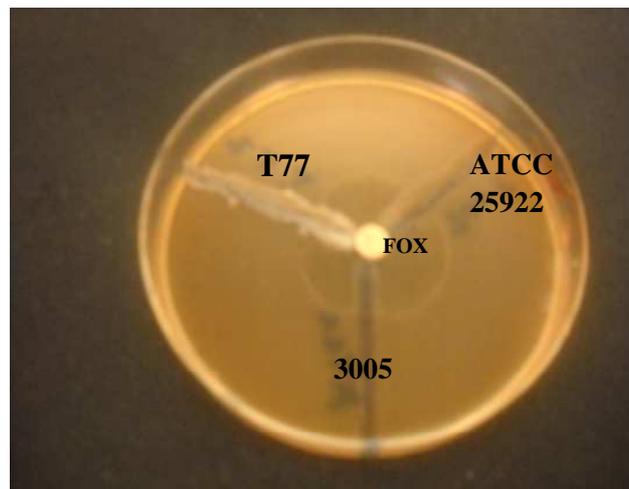


Figure 12 : Test de Hodge positif pour la souche T.77 (*K.pneumoniae*)

Tableau N°VII: Comparaison entre les diamètres (mm) des zones d'inhibition sur gélose Mueller-Hinton et Mueller-Hinton additionné de cloxacilline.

Code	Souche	Diamètre	CAZ	CTX	TCC	FOX	Image de synergie	Test de Hodge	Enzyme
M15	<i>E. coli</i>	Ø sur MH	9	21	6	6	-	+	AmpC
		Ø sur MH+cloxa	26	27	15	18	-		
		≠ (mm)	17	6	9	15			
M63	<i>E. coli</i>	Ø sur MH	9	9	6	12	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	19	21	17	20	+		
		≠ (mm)	13	13	11	8			
M73	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	6	8	6	6	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	15	15	19	17	+		
		≠ (mm)	9	7	13	15			
M74	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	8	10	9	10	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	19	20	16	19	+		

Résultats et discussion

		MH+cloxa							
		≠ (mm)	11	10	7	9			
M75	<i>P. mirabilis</i>	Ø sur MH	16	6	9	6	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	14	15	17	15	+		
		≠ (mm)	8	9	8	6			
M76	<i>P. mirabilis</i>	Ø sur MH	9	9	9	9	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	20	19	15	20	+		
		≠ (mm)	11	11	6	8			
M52	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	6	6	6	9	-	-	BLSE ou IM
		Ø sur MH+cloxa	8	8	8	11	-		
		≠ (mm)	2	2	2	2			
M86	<i>P. mirabilis</i>	Ø sur MH	8	9	9	10	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	19	18	20	18	+		
		≠ (mm)	11	9	11	8			
M88	<i>P. mirabilis</i>	Ø sur MH	6	6	6	6	-	-	BLSE ou IM
		Ø sur MH+cloxa	6	9	9	10	-		
		≠ (mm)	0	3	3	4			
M83	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	9	9	10	14	-	+	BLSE +AmpC
		Ø sur MH+cloxa	14	13	14	19	+		
		≠ (mm)	5	4	4	5			
T77	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	9	10	8	10	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	19	18	20	18	+		
		≠ (mm)	14	8	12	8			
17-63	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	6	6	9	6	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	17	15	21	16	+		
		≠ (mm)	11	9	15	10			
17-71	<i>M. morgani</i>	Ø sur MH	9	14	9	8	-	/	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	20	21	20	18	+		
		≠ (mm)	11	6	11	10			

Résultats et discussion

M48	<i>S. marcescens</i>	Ø sur MH	9	6	8	9	-	/	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	18	16	22	22	+		
		≠ (mm)	9	10	12	13			
IT-101	<i>M. morganii</i>	Ø sur MH	9	11	10	6	-	/	AmpC
		Ø sur MH+cloxa	25	26	24	24	-		
		≠ (mm)	16	15	14	18			
T57	<i>S. marcescens</i>	Ø sur MH	10	13	14	9	-	/	AmpC
		Ø sur MH+cloxa	27	26	25	20	-		
		≠ (mm)	13	11	11	11			
M85	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	6	8	9	11	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	15	18	20	20	+		
		≠ (mm)	9	10	11	9			
M84	<i>K. pneumoniae</i>	Ø sur MH	9	9	8	9	-	+	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	18	19	17	19	+		
		≠ (mm)	9	10	9	10			
17-65	<i>C. freundii</i>	Ø sur MH	6	9	9	9	-	/	BLSE+ AmpC
		Ø sur MH+cloxa	19	19	17	18	+		
		≠ (mm)	13	10	8	9			
M14	<i>E. coli</i>	Ø sur MH	6	6	10	9	-	-	BLSE ou IM
		Ø sur MH+cloxa	8	9	12	12	-		
		≠ (mm)	2	3	2	3			

Légende: MH : Mueller Hinton, Ø : Diamètre sur gélose Mueller Hinton et sur Mueller Hinton additionnée de 250µg/ml de la cloxacilline. IM : imperméabilité membranaire.

Le tableau N° VII ci-dessus mentionne les diamètres des zones d'inhibitions autours des disques de CAZ, CTX, FOX et TCC sur la gélose Muller-Hinton et Muller-Hinton additionnée de 250µg/ml de cloxacilline.

Pour les souches: *E. coli* M63 , *K. pneumoniae* M73, M74 , M84, M83,M85 ,T77, 17-63, *P.mirabilis* M75, M76, M86, *C. freundii* 17- 65 , *S.marcescens* M48, et *M.morganii* 17-

71 soit au total 14 souches, l'augmentation des diamètres d'inhibition autour des disques de céfotaxime, céftazidime, et céfoxitine et la présence d'une image de synergie sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline (tableau VII) suggère que ces souches résistent aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases chromosomiques ou plasmidiques et par la production d'une BLSE.

Les souches de : *K.pneumoniae* M52, *E. coli* M14, et *P. mirabilis* M88 ne présentent qu'une légère variation dans leur diamètre des zones d'inhibition sur gélose à la cloxacilline (tableau VII) indiquant l'absence d'une Céphalosporinase plasmidique, ce qui est confirmé par le Hodge test modifié. La résistance de ces souches aux β -lactamines est due à la présence de BLSE, par contre, la résistance à la céfoxitine peut être due à une imperméabilité membranaire.

L'augmentation des diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques pour la souche d'*E.coli* M15, ainsi que l'absence d'une image de synergie indique la résistance par une céphalosporinase plasmidique, le même résultat est obtenu avec les souches *M.morganii* (IT101) et *S. marcescens* (T57) qui résistent naturellement par leur Céphalosporinase chromosomique.

III.1.3. Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines

La détermination des différents phénotypes de résistance est effectuée à la base de :

- La résistance naturelle de la souche ;
- Présence ou absence d'une BLSE, qui est mise en évidence par le DD-test ;
- Résistance aux C3G (CTX et /ou CAZ) ;
- Résistance aux C4G;

La combinaison entre ces paramètres, permet la déduction de 4 phénotypes possibles, et qui sont donnés dans le tableau N°VIII.

Tableau N° VIII: phénotypes les plus probables et critère de distinction (Bonnet et al., 2006 d'après Aissou, 2007)

	CTX	CAZ	C4G	Synergie	Phénotype
CTX-M-15, -16, -27 ou 55	R	R	R	Présence ou absence	A
BLSE autre que les CTX-M	R	R	S	Présence	B
BLSE de type ceftazidimase	S	R	S	Présence	C
Hyperproduction de céphalosporinase	R	R	S	Absence	D

La figure 13 ci-dessous présente la fréquence des phénotypes de résistance observés avec les 76 souches d'entérobactéries isolées durant cette étude.

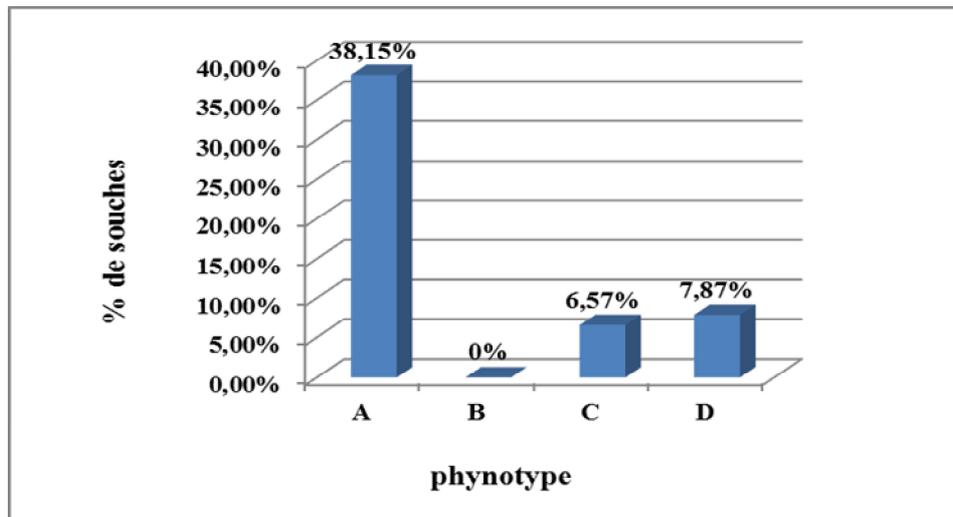


Figure 13: Les phénotypes de résistance probables pour les EB-BLSE isolées

Cette figure montre la dominance du phénotype A qui correspond aux BLSE de type CTX-M-15, -16, -27 ou 55 et qui est exprimé par 38,15% (29/76) des souches d'entérobactéries isolées, suivi par le phénotype D et C qui correspondent à l'hyperproduction de céphalosporinase chromosomique et BLSE de type céftazidimase respectivement.

Le phénotype B qui correspond aux BLSE autre que les CTX-M, n'est pas détecté dans cette étude.

III.1.4. Détermination des CMI

Les résultats des CMI montrent une variabilité entre les souches et leurs réponses aux différents antibiotiques testés. Les valeurs des CMI varient de 32 µg/ml à 128 µg/ml pour la CAZ, ATM, CPO et de 16 à 64µg/ml pour la FOX.

Les CMI de la CAZ et CPO sont les plus élevés où la plupart des souches testées pour ces 2 antibiotiques ont des CMI de 128 ou >128µg/ml.

Le tableau ci-dessous montre les CMI des souches testées à l'égard des 4 antibiotiques testés.

Tableau N° IX : CMI des souches testées à l'égard des 4 antibiotiques testés

Code	Souche	CAZ		CPO		ATM		FOX	
		MHs	Cloxa	MHs	Cloxa	MHs	cloxa	MHs	Cloxa
M14	<i>E. coli</i>	>128	>128	/	/	/	/	32	16
M48	<i>S.marcescens</i>	>128	/	128	64	64	32	/	/
M52	<i>K.pneumoniae</i>	/	/	>128	/	/	/	/	/
M63	<i>E. coli</i>	128	/	/	/	64	32	/	/
M73	<i>K.pneumoniae</i>	>128	64	>128	64	>128	64	/	/
M75	<i>P.mirabilis</i>	>128	64	>128	64	>128	64	12864	32
M85	<i>K. pneumoniae</i>	128	/	/	/	/			/
M88	<i>P.mirabilis</i>	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>64	32
M97	<i>K.pneumoniae</i>	/	/	>128	/	>128	/	/	/
IT11	<i>E. coli</i>	/	/	128	/	/	/	/	/
IT20	<i>E. coli</i>	/	/	>128	/	32	/	/	/
IT23	<i>E. coli</i>	/	/	>128	/	/	/	/	/
17-25	<i>E. coli</i>	/	/	/	/	/	/	/	/
17-63	<i>K.pneumoniae</i>	/	/	>128	64	32	/	/	/
17-65	<i>M.morganii</i>	/	/	128	64	/	/	/	/
17-71	<i>C.freundii</i>	/	/	/	/	128	/	/	/
T14	<i>E.Cloacae</i>	/	/	/	/	/	/	>64	32
T44	<i>K.pneumoniae</i>	64	/	/	/	/	/	/	/
T87	<i>E.coli</i>	128	/	128	/	32	/	/	/
T88	<i>P.mirabilis</i>	64	/	128	/	32	/	/	/
IT8	<i>E.coli</i>	64	/	/	/	/	/	/	/
IT9	<i>E.coli</i>	64	/	/	/	/	/	16	16
IT83	<i>C.freundii</i>	64	/	/	/	/	/	32	16
M15	<i>E.coli</i>	128	64	/	/	/	/	/	/

Légende : MHs : Mueller Hinton sans Cloxacilline, cloxa : Mueller Hinton additionné de Cloxacilline. Le slache (/) pour les CMI non réalisées.

D'après le tableau N°IX, On note que les 2 souches *Proteus mirabilis* M75 et M88 exprime les CMI les plus élevées pour les 4 antibiotiques utilisés, de même pour la souche *K. pneumoniae* (M73) à l'exception de la FOX dont la CMI de cet antibiotique n'a pas été réalisée pour cette souche, à cause d'une mauvaise identification de la souche au début.

On note que les CMI des souches résistantes à la FOX, par production d'une AmpC chromosomique ou plasmidique, ont diminué en présence de la cloxacilline.

III.2. Résistances associées

Des antibiotiques appartenant à des familles autres que les β -lactamines sont testés sur nos souches pour évaluer leur sensibilité vis-à-vis de ces antibiotiques et déterminer des résistances associées. La figure suivante montre la résistance des souches isolées vis-à-vis de 4 antibiotiques de familles différentes :

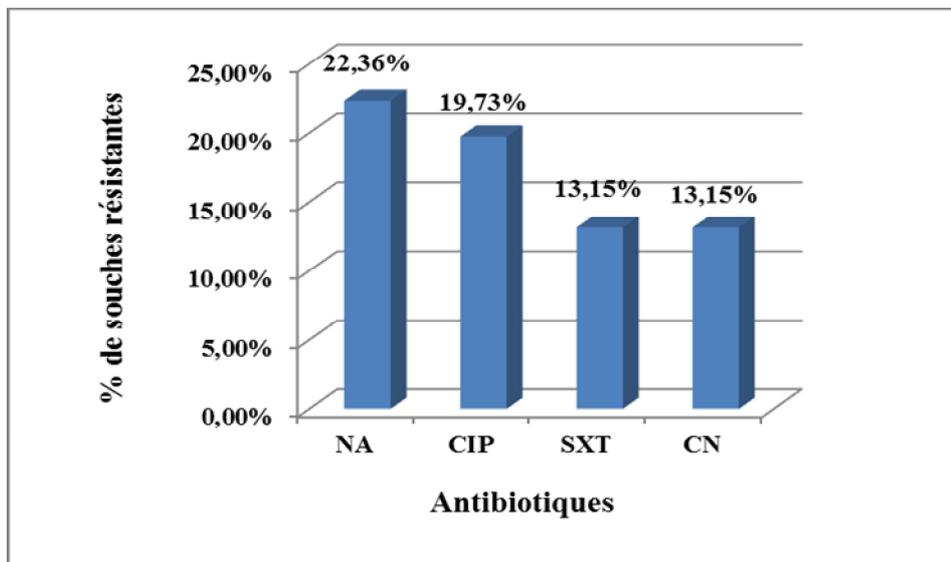


Figure 14: la résistance aux quinolones, fluoroquinolones, aminosides et sulfamides.

III.2.1. Résistance aux quinolones (NA) et fluoroquinolones (CIP)

22,36% des souches d'entérobactéries isolées ont exprimé une résistance vis-à-vis des quinolones, et qui sont représentés par l'Acide nalidixique. 82,35% (soit 14/17) des souches sont productrices de BLSE et certaines sont résistantes à la Ciprofloxacine.

La résistance aux fluoroquinolones qui sont représentés par un seul antibiotique, la ciprofloxacine (CIP), est exprimée chez 15 souches, soit 19,73% de la totalité des souches d'entérobactéries.

73,33% des souches résistantes à la Ciprofloxacine (11/15) sont productrices de BLSE. Les souches concernées sont : *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, et *Morganella morganii*.

III.2.2. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont aussi touchés par la résistance avec 13,15% (10 souches). Ils sont représentés par un seul antibiotique qui est la Gentamycine (CN). On note que 60% (6/10) de ces souches sont productrices de BLSE : 4 souches de *E. coli* et 2 souches de *C. freundii*. Toutes les souches résistantes à la gentamycine expriment en parallèle une résistance à la Ciprofloxacine et l'Acide nalidixique. Ces souches sont ainsi qualifiées de bactéries multi-résistantes (BMR).

III.2.3. Résistance aux sulfamides Triméthoprime (SXT)

Le taux de résistance à la Triméthoprime-sulfaméthoxazole SXT est similaire à celui obtenu pour la Gentamycine (13,15%) mais pas chez les mêmes souches. 70% de souches résistantes à cet antibiotique sont productrices de BLSE : 2 souches *C. freundii* et 5 souches *E. coli*.

53,12% des souches productrices de BLSE expriment en parallèle une résistance à au moins un antibiotique d'une autre famille autre que les β -lactamines.

On note aussi que 2 souches de *C. freundii* et 1 souche d'*E.coli* expriment une résistance à tous les antibiotiques cités dans cette étude à l'exception de l'imipénème.

IV. Transfert par conjugaison

Le transfert par conjugaison a été réalisé pour 7 souches résistantes à la Céfotaxime et sensibles à la Rifampicine, notant que ces souches sont aussi productrices de BLSE.

Le caractère de transfert plasmidique de la résistance est parfois mis en évidence après plusieurs essais, et dans le seul essai réalisé dans cette étude, aucune croissance n'a été observée sur la gélose de sélection (Rifampicine+ CAZ) pour toutes les souches testées, donc le transfert de la résistance aux antibiotiques n'a pas probablement eu lieu. Ce résultat admet la possibilité que le plasmide porteur du caractère n'est pas conjugatif.

V. Portage fécal d'Entérobactéries productrices de BLSE

V.1. EB-BLSE identifiées

Sur les 267 prélèvements collectés, 76 souches isolées et identifiées sont des entérobactéries dont 29 (38,15%) sont des souches productrices de BLSE :

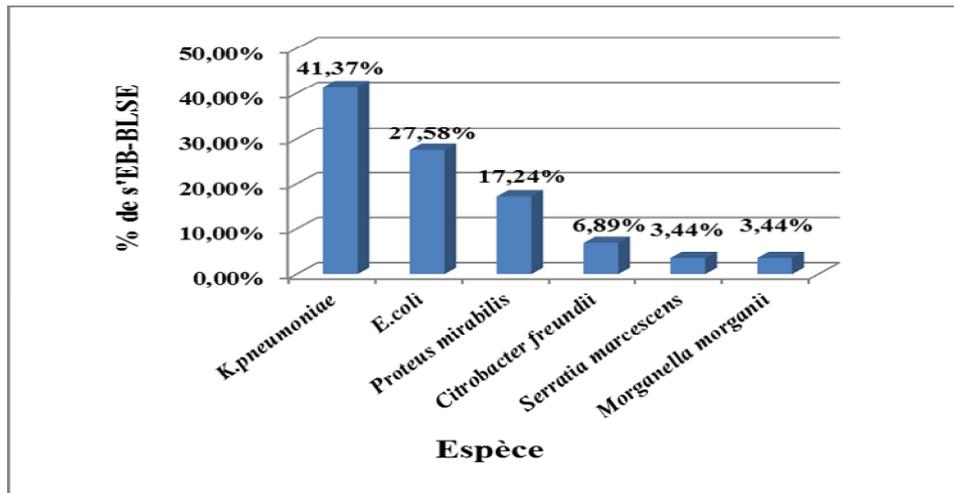


Figure 15 : La répartition des souches d'EB-BLSE par espèce

La figure 15 montre une prédominance de *K. pneumoniae* (12/29), suivi par *E. coli* (8/29). Les autres espèces sont faiblement représentées.

V.2. Portage fécal des EB-BLSE selon la résidence

L'analyse statistique des données par le test de X^2 montre une différence significative dans la distribution des fréquences d'EB-BLSE selon les résidences. Le nombre le plus important est enregistré au niveau de la résidence de 1000 lits avec 55,17% (16/29). Ce taux représente 69,56% de la totalité des souches d'entérobactéries isolées au niveau de cette cité, après viennent les résidences de Targa Ouzamour avec 20,68% (6/29), 17 Octobre 1961 avec 13,79% (4/29) et enfin la résidence d'Aamriw avec 10,34% (3/29).

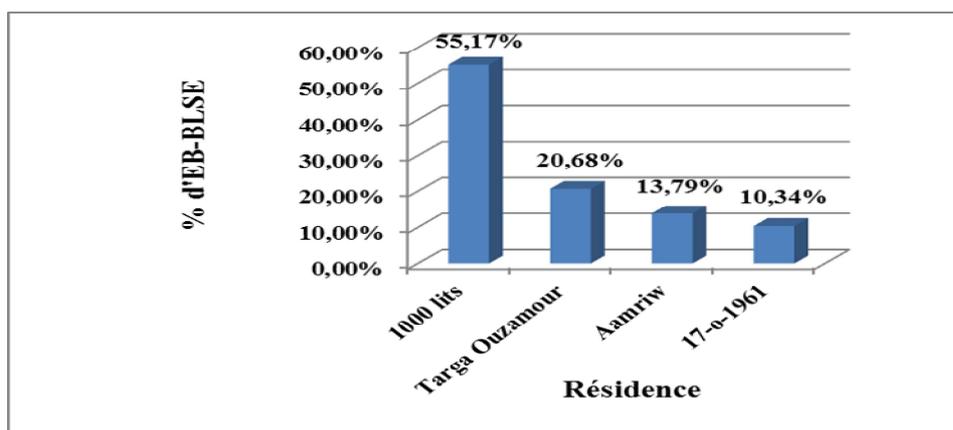


Figure 16 : Le portage d'EB-BLSE selon les résidences

V.3. Portage fécal des EB-BLSE selon le sexe

L'analyse des résultats obtenus permet d'enregistrer un portage d'EB-BLSE estimé de 72,41% (21/29) chez le sexe masculin, contre 27,59% (8/29) chez le sexe féminin. On note aussi que 47,61% d'EB-BLSE chez le sexe masculin est enregistré au niveau de la résidence

de 1000 lits (10/21). L'analyse statistique des données faite par le test de X^2 révèle que le sexe dans notre étude est considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE. Le portage fécal des EB-BLSE selon le sexe est montré dans la figure 17 ci-dessous.

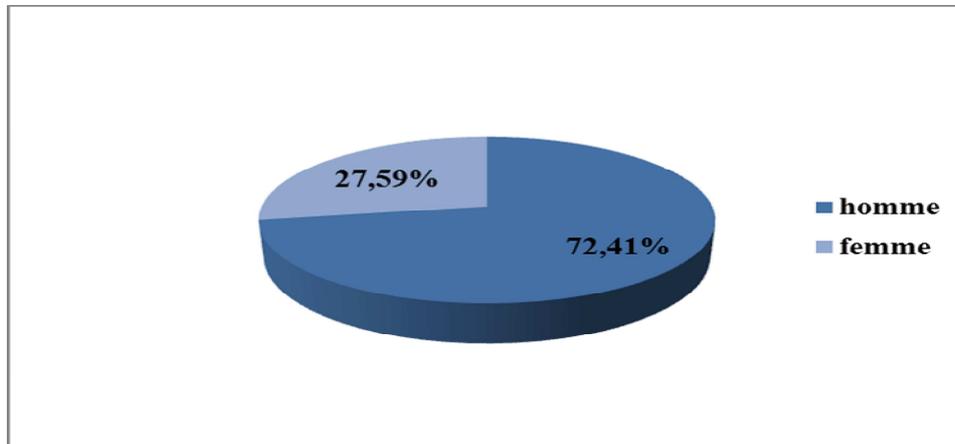


Figure 17 : Le portage d'EB-BLSE selon le sexe

V.4. Portage fécal des EB-BLSE selon l'antibiothérapie préalable

34,48 % (10/29) de souches productrices de BLSE sont identifiées chez des résidents sous antibiothérapie au cours de cette année. Selon le test de X^2 effectué pour l'analyse statistique, l'antibiothérapie dans notre étude n'est pas considérée comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE. La figure ci-dessous montre la répartition des EB-BLSE selon l'antibiothérapie préalable.

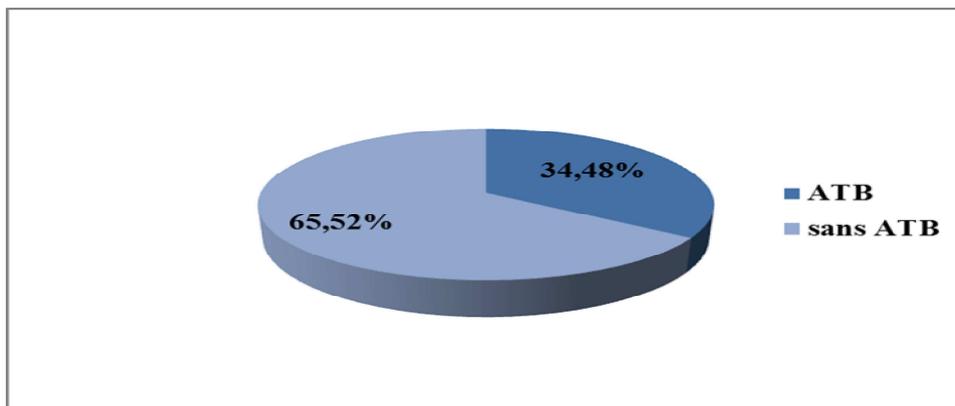


Figure 18 : Le portage EB-BLSE selon l'antibiothérapie

Légende : ATB pour antibiothérapie, sans ATB pour sans antibiothérapie

V.5. Portage fécal des EB-BLSE selon l'hospitalisation antérieure

Durant cette étude, nous avons enregistré 2 personnes porteuses d'EB-BLSE avec des antécédents d'hospitalisation. La fréquence théorique de ce facteur est inférieure à 5, de ce

fait le test de X^2 n'est pas applicable pour ce cas, et l'évaluation de l'hospitalisation antérieure autant qu'un facteur de risque ne peut être effectuée.

V.6. Portage fécal des EB-BLSE selon le bloc et l'étage

Les données bactériologiques en tenant compte des données épidémiologique ont permis la révélation des porteurs d'EB-BLSE dans le même bloc ou dans le même étage dans certaines cités universitaires. Alors qu'aucune présence de porteurs de BLSE n'a été signalée dans la même chambre. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N°X : Tableau résumant le portage fécal des EB- BLSE selon le bloc et l'étage

résidence /sexe	BLSE dans le même bloc		BLSE dans le même étage	
	Fille	Garçon	Fille	Garçon
1000 lits	Bloc D : 2	Bloc I : 4 Bloc G : 2	2	2
Targa Ouzamour	0	Bloc D : 2 Bloc B : 2	0	2
Aamriw	0	Bloc C : 2	0	2
17-Octobre-1961	0	Bloc K : 2	0	2

V.7. Portage fécal des EB-BLSE selon d'autres facteurs

Les résultats enregistrés pour les autres facteurs sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau N° XI: Fréquence des EB-BLSE selon d'autres facteurs

	Transfert entre cité	Voyage à l'étranger	Maladies sous-jacentes	antécédents chirurgicaux
BLSE	5 (17,24%)	2 (6,89%)	4(13,79%)	1(3,44%)

Les fréquences théoriques des facteurs cités dans le tableau si dessus sont tous inférieurs à 5. Dans ce cas le test de X^2 effectuée pour l'analyse statistique n'est pas applicable et la détermination de l'influence de ces facteurs dans l'acquisition des EB-BLSE n'est pas effectuée.

La charge des chambres hébergeant les porteurs d'EB-BLSE varie de 3 à 6 à l'exception d'un cas à la résidence d'Aamriw où le nombre est de 8 résidents.

VI. Discussion générale

Jusqu'au début des années 1990, les infections communautaires dues aux entérobactéries productrices de BLSE étaient rarement rapportées. Depuis 2000, le nombre de publications concernant l'émergence de ces organismes dans la communauté a explosé, après avoir signalé pour la première fois des bactéries productrices de BLSE dans les urines d'une vieille personne en 1998. Le patient n'a pas eu une histoire récente d'hospitalisation, mais avait reçu de multiples antibiotiques (**Kurt Azap et al., 2007**). Il a été mis en évidence que les souches d'*E. coli* CTX-M circulent, en partie, sous un mode clonal et que les clones qui hébergent les CTX-M ne sont rien d'autre que les clones qui constituent les *E. coli* fécaux dominants chez l'homme. L'installation des CTX-M chez *E. coli*, c'est-à-dire chez l'entérobactérie qui vit en symbiose avec l'homme et qui est excrétée chaque jour à environ 10^{20} unités formant colonies (UFC), constitue, d'une part, un nouveau péril fécal et, d'autre part, un réservoir sans fond de BLSE pour les autres espèces d'entérobactéries qui colonisent ou transitent par le tube digestif humain (**Nicolas-Chanoine, 2012**).

Cette étude est menée sur un échantillon de 267 sujets asymptomatiques qui sont des étudiants résidents dans 4 cités universitaires de la wilaya de Bejaia. 76 souches d'entérobactéries résistantes à une concentration de 4µg/ml de CTX ont été sélectionnées, dont 29 souches productrices de BLSE, soit 38,15% des entérobactéries isolées et 10,86% de l'échantillon total. Ce taux est comparable à celui obtenu dans une étude à Madagascar menée par **Herindrainy et coll. (2011)** (10,1%) qui porte sur le portage rectal des bacilles à Gram négatif producteurs de BLSE isolés en milieu communautaire et une autre étude en Arabie saoudite où un taux de 12,3% de portage fécal d'EB-BLSE a été enregistré chez des patients asymptomatiques (**Kader and Kamath, 2009**). Le portage d'*E. coli* productrice de CTX-M atteint 5 % d'adultes sains en Espagne, avec une augmentation de la prévalence et de la diversité d'enzymes durant les dix dernières années (**Valverde et al., 2004**). Au Royaume-Uni, 24 % des isolats d'*E. coli* producteurs de CTX-M provenaient de patients non hospitalisés. Des *E. coli* productrices de CTX-M-2 et CTX-M-15 ont été également rapportés dans la flore commensale d'enfants en Amérique du Sud (**Pallecchi et al., 2004**).

Sur les 29 EB-BLSE, *K. pneumoniae* est l'espèce la plus isolée avec 12 souches (soit 41,37%) suivi par *E. coli* avec 8 souches (soit 27,58%). Ces résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par l'équipe de **Barguigua et coll. (2011)** menée au Maroc sur la caractérisation des souches de *E. coli* et *K. pneumoniae* productrices de BLSE isolées dans la communauté où une dominance apparente de *E. coli* a été signalée.

Les BLSE de type CTX-M est, comme prévu, le phénotype de résistance le plus répondu dans notre étude. Il s'agit probablement de BLSE de type CTX-M-15. Ces dernières sont les plus isolées en Algérie (**Ramdani-Bougoussa et al., 2006 ; Iabadene et al., 2009**) et au monde entier (**Carrër et Nordmann, 2009**). Des résultats similaires sont obtenus dans l'étude d'**Arpin (2009)** effectuée en France et celle de **Herindrainy (2010)** à Madagascar. Au cours des années 1990, l'enzyme CTX-M, notamment CTX-M-15 a émergé dans le monde entier et en particulier au milieu communautaire, le plus souvent détectée chez *E. coli* dans les infections des voies urinaires.

La dissémination des CTX-M ne s'est pas limitée à *E. coli*. À l'heure actuelle, les CTX-M notamment CTX-M-15, sont aussi largement répandues chez *K. pneumoniae*. Au total, toutes BLSE confondues, environ 6 % des isolats cliniques d'*E. coli* et 15 % de *K. pneumoniae* identifiés dans les hôpitaux universitaires de France, sont producteurs de BLSE. Compte tenu qu'il y a au moins six fois plus d'infections à *E. coli* que d'infections à *K.pneumoniae*, il est clair que ce sont les *E. coli* productrices de BLSE qui pèsent le plus dans le domaine de l'infection, notamment des infections acquises en ville (**Nicolas-Chanoine, 2012**).

Ces enzymes sont largement répandues à travers diverses entérobactéries, par la transmission de plasmides et d'éléments génétiques mobiles plutôt que par diffusion clonale d'une espèce bactérienne (**Herindrainy et al., 2011**).

Le sexe masculin dans notre étude est identifié comme l'un des principaux facteurs de risque pour l'acquisition d'EB-BLSE est qui représente un taux de 72,41% (21/29). Nos résultats concordent avec ceux obtenus dans d'autres études (**Ben-Ami et al., 2010 ; Herindrainy et al., 2011 ; Luvsansharav et al., 2012**).

Durant cette étude, nous avons essayé de déterminer l'impact d'autres facteurs de risque du portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE au milieu communautaire. Cependant, la fréquence théorique de ces facteurs n'a pas permis d'appliquer le test de X^2 pour l'analyse statistique.

L'antibiothérapie antérieure n'est pas considérée comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE. En revanche, plusieurs résultats similaires ont été obtenue aussi dans plusieurs études (**Ben-Ami et al., 2010 ; Luvsansharav et al., 2012**).

Des travaux effectués sur la même thématique qualifient les éléments suivant: hospitalisation dans les trois mois précédent, une intervention chirurgicale récente, voyage à l'étranger, maladie sous-jacente comme le diabète, l'infection urinaire répétitive, comme étant

des facteurs de risque d'acquisition, dans la communauté, d'EB-BLSE. L'impact du facteur âge n'a pas été évalué, car les sujets de cette étude font partie de la même tranche d'âge (20 à 34 ans). Par contre d'autres études ont signalé qu'un âge >65ans est considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE (**Kurt Azap et al., 2007; Herindrainy et al., 2011 ; Strömdahl, 2011**).

Les EB-BLSE dans cette étude expriment une résistance de 41,37% et 37,73% vis-à-vis de l'acide nalidixique et la ciprofloxacine respectivement. Des taux plus élevés sont enregistrés dans plusieurs études comme celles de **Rodriguez-Bano (2004)** au Mexique et **Ben-Ami et coll. (2010)** en Israël, vis-à-vis des quinolones et fluoroquinolones, ainsi que d'autres études qui confirment le risque d'acquisition des EB-BLSE notamment d'*E.coli* dans le milieu communautaire comme conséquence d'utilisation de ces antibiotiques.

Plusieurs études rapportent l'association des gènes codant pour les BLSE de type CTX-M avec les gènes *qnr* codant pour une protéine qui protège la cible des quinolones (ADN gyrase) et *acc-(6')-Ib-cr* (gène qui code pour une enzyme modificatrice de la ciprofloxacine) de résistance aux quinolones sur le même plasmide (**Cerquetti et al., 2010**). L'étude réalisée par **Meradi et coll. à Annaba (2009)** portant sur la résistance aux quinolones de types *qnr*, *aac (6')-Ib-cr* chez les entérobactéries, a montré l'association des gènes *bla_{CTX-M-28}* et *qnrB*.

La résistance associée notamment aux triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT) et aux aminosides représentés par la gentamycine (CN) a été signalée dans cette étude (soit 13,15%), ce qui est fréquemment connue chez les EB-BLSE (**Kurt Azap et al., 2007**). Donc, en plus de la résistance aux C3G, les souches d'EB-BLSE sont aussi, dans leur très grande majorité, résistantes aux autres familles d'antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole. La multi-résistance des entérobactéries productrices de CTX-M a poussé sur le devant de la scène les carbapénèmes en cas d'infections sévères ou profondes dans la mesure où l'inadéquation du traitement empirique est un facteur de risque de mortalité chez les patients ayant une bactériémie à EB-BLSE. Au moment même où l'usage des carbapénèmes s'est fait plus massif à cause des entérobactéries productrices de BLSE, les carbapénémases ont émergé.

Notre étude a révélé la présence de porteurs d'EB-BLSE résidents dans le même bloc ou dans le même étage. De ce fait, le transfert de résistance peut continuer d'une personne à une autre par la médiation de l'eau potable, de la nourriture, des mains, dans les chambres, les salles d'eau, le restaurant etc.

La charge des chambres hébergeant les porteurs d'EB-BLSE varie dans cette étude de 3 à 6 résidents avec un cas de 8 résidents. La diffusion des EB-BLSE de type CTX-M dans la communauté a été déjà décrite dans plusieurs endroits, cette diffusion peut être due au manque d'hygiène, la contamination par la même source d'alimentation, ou par la diffusion des EB-BLSE dans l'environnement, dont les résultats d'une étude menée par **Dolejska et coll. (2011)** mettent en évidence l'insuffisance du processus de traitement dans l'élimination des bactéries multi-résistantes à partir des eaux usées ce qui constitue un point de risque de transmission de souches multi-résistantes cliniquement important, tels que la pandémie de clone ST131 à l'environnement.

Le risque de plusieurs facteurs dans l'acquisition d'EB-BLSE n'a pas été déterminé dans cette étude, mais la possibilité de la transmission en milieu communautaire de ces bactéries, notamment de l'animal à l'homme, a été discutée dans la littérature et des travaux récents ont confirmé cette hypothèse.

Une étude est réalisée sur une collection d'animaux de compagnie et de chevaux hollandais caractérisant des isolats producteurs de BLSE ou d'AmpC menée par **Dierikx et coll. (2011)** a mis en évidence une similitude dans les gènes de résistance d'*E. coli* entre des isolats d'une volaille néerlandaise et des isolats humains. Ce résultat peut suggérer l'échange de la résistance entre les différents réservoirs. Une autre étude menée par **Giufre et coll. (2011)** a révélé des clones d'*E. coli* ayant une résistance associée à la ciprofloxacine commune dans des isolats d'origine humaine et aviaire.

Il est à noter que la recherche d'un portage fécal d'EB-BLSE dans la communauté peut être réalisée à partir d'échantillons de selles reçues au laboratoire, mais par définition, ces échantillons sont des prélèvements à visée diagnostique dans un contexte pathologique, avec une prise possible d'antibiotiques récente ou un contact avec les milieux de soins, pouvant conduire à une surestimation du portage. Cela explique la diversité des chiffres retrouvés dans la littérature, en fonction du type d'échantillons choisis et des caractéristiques de la population (patients de ville, patients entrant à l'hôpital, patients consultants dans les services d'urgences). Donc pour évaluer de la façon la plus fiable possible cette prévalence, il faut avoir recours à des échantillons biologiques peu invasifs provenant de sujets sains, en dehors de tout contexte hospitalier (**Janvier et al., 2009**).

La flore digestive est le principal réservoir d'entérobactéries et parmi celles-ci, *E. coli* est l'espèce prédominante. Dans les infections communautaires à EB-BLSE, un portage digestif associé est retrouvé dans la plupart des cas. L'estimation du portage digestif d'EB-BLSE permet d'apprécier la diffusion d'EB-BLSE dans la population, en dehors de tout contexte infectieux et ainsi de limiter leur diffusion dans la communauté.

Cette étude qui s'est déroulée sur une période de 3 mois a permis de :

- Collecter 267 échantillons de selles à l'aide des prélèvements rectaux chez des étudiants volontaires résidents certaines cités universitaires de la wilaya de Bejaia. La population ciblée durant notre étude fait partie de la même tranche d'âge qui va de 20 à 34 ans (adulte) et avec un sexe ratio de 1,3 (151(F)/116(M)).
- 76 souches d'entérobactéries sont isolées et identifiées dont *E. coli* (39 souches) et *K. pneumoniae* (15 souches) sont les espèces les plus isolées.
- La résistance aux β -lactamines la plus élevée est enregistrée pour la CAZ et l'AMC avec un taux de 70,52%, suivi de CTX avec un taux de 52,63%. Aucune résistance n'est enregistrée à l'égard de l'imipénème.
- Les souches productrices d'AmpC plasmidique sont au nombre de 11 dont 9 souches sont isolées au niveau de la résidence de 1000 lits.
- Le test de synergie a montré la production d'enzymes BLSE chez 29 souches, soit 10,86% de la totalité de notre échantillon. Une légère différence est signalée pour l'espèce *K. pneumoniae* avec 12 souches suivies par *E. coli* avec 8 souches. Les autres espèces sont faiblement représentées.
- Le phénotype de résistance le plus dominant est le phénotype A qui correspond à la production de BLSE de type CTX-M (-15,-16,-27, ou -55).
- Les CMI des souches testées les plus élevées sont notées pour la céftazidime (CAZ) et le céfpirome (CPO).
- Des résistances associées à d'autres antibiotiques autres que les β -lactamines sont enregistrées : l'acide nalidixique (22,36%), la ciprofloxacine (19,73%), la gentamicine (13,15%) et sulfaméthoxazol-triméthoprime (13,15%).

- Le taux de portage d'EB-BLSE le plus élevé est enregistré au niveau de la résidence de 1000 lits avec 55,17%, suivi par Targa Ouzamour avec un taux de 20,68%.
- Le seul facteur de risque ainsi déterminé dans cette étude est le sexe masculin.

La prise en charge du problème des bactéries productrices de BLSE est un véritable défi du fait de l'augmentation de la diversité et de l'ubiquité des gènes codant ces enzymes chez les entérobactéries. La réalisation de ce mémoire a permis de souligner l'intérêt qui devrait être porté à la communauté universitaire résidente en terme de transmission d'antibiorésistance. La sensibilisation alors de cette catégorie aux risques liés à l'usage aléatoire des antibiotiques et manque d'hygiène s'avère importante voire nécessaire.

Notre étude connaît certaines limites telles que la taille de l'échantillon, pour cela l'élargissement du spectre d'étude vers d'autres collectivités (les crèches, les casernes, les écoles, les fermes d'élevages,...) est souhaitable pour bien définir les facteurs de risque et les mesures de prévention. Mais également réviser, les réglementations concernant la prescription des antibiotiques chez les humains, les animaux et leur usage en agriculture.

L'utilisation de la biologie moléculaire permettra d'identifier les gènes responsables de cette résistance et de rechercher une éventuelle relation clonale entre nos souches.

A

- ❖ **Abdelaziz A. et Boudjit S. (2010).** Portage digestif d'Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendue au niveau de l'hôpital de Jijel. Mémoire de fin de cycle (Master) en microbiologie, université A/Mira de Béjaia.
- ❖ **Acar J., Glauser M. et Moreillon P. (1999).** Résistance bactérienne aux β -lactamines par production de β -lactamases. In: *Les Antibiotiques: Agents Antibactériens et Antifongique*. Ed. Ellipse. Paris. pp. 436-445.
- ❖ **Adjidé C.C., Biendo M., Rousseau F., Hamdad-Daoudi F., Thomas D., Laurans G., Canarelli B., Obin O., Hénicque M., Schmit J. L. et Eb F. (2006).** *Escherichia coli* producteur de bêtalactamases à spectre étendu : de nouvelles menaces nosocomiales ? *Pathologie Biologie* **54** : 510–51.
- ❖ **Aid F. et Merabet K. (2008).** Etude de la résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries isolées d'infections urinaires : cas de l'hôpital d'Amizour. Mémoire de fin de cycle (ingénieure) en Génie Biologique, université A/Mira de Bejaia.
- ❖ **Ait ouali N. et Guendouzen K. (2008).** Contribution à l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir de divers prélèvements pathologiques au niveau du laboratoire AIT BACHIR à AKBOU. Mémoire fin de cycle en Génie biologique, université A/Mira de Bejaia. 88p.
- ❖ **Andremont A. (2000).** Conséquences de l'antibiothérapie sur l'écosystème interstinal. Éditions scientifiques et médicales Elsevier. *Ann Fr Anesth Réanim* ; **19** : 395–402.
- ❖ **Arab M. (2011).** Caractérisation des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées à l'hôpital universitaire de setif. Mémoire de fin de cycle, université de Béjaia.
- ❖ **Aubry-Damon H.(2000).** Les problèmes actuelles de résistance bactérienne aux antibiotiques en médecine. *Revue médical suisse*, **683**(207910), publiée le 11/10/2000.
- ❖ **Aubry-Damon H., Grenet K., Ndiaye Sall P., Chel D., Cordeiro E., Liénard M., Delzescaux D., Desenclos J-C., Andremont A., Rigaud E. et Valenciano M.(2001).** Résistance aux antibiotiques des bactéries commensales isolées chez les éleveurs de porcs. France 2001.

«http://www.invs.sante.fr/publications/2004/resistance_atb_eleveurs/resistance_atb_eleveurs.pdf»

B

- ❖ **Barbe C., Fusellier A., Bureau Chalot F., Brasme L., Garnier V., De Champs C. et Bajolet O. (2009).** Etude des facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique d'*Escherichia coli* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu. *Pathol Biol. Paris*.
- ❖ **Barguigua A., El Otman F., Talmi M., Bourjilat F., Haouzane F., Zerouali K. and Timinouni M. (2011).** Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the community in Morocco. *Med Microbiol*, **60**:9 1344-1352.
- ❖ **Bassetti M., Rghi E. and Viscoli C. (2008).** Novel β -lactam antibiotics and inhibitor combination. *Expert Opin. Investing. Drugs*. **17**, 285-296.
- ❖ **Ben-Ami R., Rodríguez-Baño J., Arslan H., Pitout J.D., Quentin C., Calbo E.S., Azap O.K., Arpin C., Pascual A., Livermore D.M., Garau J. and Carmeli Y.(2010).** A Multinational Survey of Risk Factors for Infection with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Nonhospitalized Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 682-690.
- ❖ **Bibbal D. (2008).** Impact des bêta-lactamines sur l'émergence d'Entérobactéries résistantes dans la flore digestive chez les porcs. Caractérisation et stratégie de prévention. Thèse de Doctorat en Pharmacologie. Université de Toulouse III- Paul Sabatier, Ecole doctorale: Biologie-Santé-Biotechnologie, Toulouse, 152 p.
- ❖ **Bourlioux P., Koletzko B. et al. (2003).** "The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine" held in Paris, June 14, 2002. *Am J Clin Nutr* **78**(4): 675-83.
- ❖ **Bryskier A. (1999).** Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. *Ed. Ellipses*, Paris. 1210p.
- ❖ **Bush K., Jacoby G.A. et Medeiros A.A. (1995).** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents chemother.* **39**, 1211-1233.

C

- ❖ **Canton R. et Coque T.M. (2006).** The CTX-M β -lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology*. **9**:466–475.
- ❖ **Canton R., Morosini M.I., Martin O., de la Maza S., de la Pedrosal E. et Gomez G. (2008).** IRT and CMT β -lactamases and inhibitor resistance. *Clinical Microbiology and Infection* **14**: 53–62.
- ❖ **Carrère A. et Nordmann P. (2009).** *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des β -lactamases à spectre étendu. *Pathologie Biologie*; Article in Press.
- ❖ **Cattoir V. (2004).** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*. **52**: 607–616.
- ❖ **Cattoir V. (2008).** Les nouvelles β -lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation* : 203-209.
- ❖ **Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C. et Garrabé E. (2004).** Beta-lactam antibiotics. *EMC-Maladies Infectieuses*, **1**: 129–202.
- ❖ **Chainier D. (2008).** Prévalence du portage digestif en intégrons de résistance aux antibiotiques chez l'Homme et l'animal en Limousin et dans les eaux. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Etudes. Ecole Pratique des Hautes Etudes, Sciences de la Vie et de la Terre. 30p.
- ❖ **Charlier P., Coyette J., Dehareng D., Dive G., Duez C., Dusart J., Fonzé E., Fraipont C., Frère J. M., Galleni M., Goffin C., Josette B. et Martine L. B. N. (1998).** Résistance bactérienne aux β -lactamines. *Médecine/sciences*. **14**: 544-555.
- ❖ **Charpentier E. et Novak R. (2000).** Mort bactérienne et antibiotiques de la famille des β -lactamines. *médecine/sciences* **16** : 1125-1127.
- ❖ **Chavane de Dalmassy – Prioux E. (2011).** Infections invasives à bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu chez l'enfant. Etude rétrospective dans un Centre Hospitalier Universitaire parisien. Thèse de Doctorat en médecine. Université PARIS DESCARTES (Paris5), Faculté de médecine, 92p.
- ❖ **Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (1995).** Projet de Norme N°2 : Méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide pour les bactéries aérobies à croissance rapide. Communiqué.

- ❖ **Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** Communiqué, 2010.
- ❖ **Courdon P.E., Moland E.S. and Thomson K.S. (2000).** Occurrence and detection of AmpC β -lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* isolates at a Veterans Medical Center. *Journal of Clinical Microbiology*; **38**: 1791-1796.

D

- ❖ **Denis K. B., Kisame R. and Olet S. (2011).** Multi-drug resistance in commensal bacteria of food of animal origin in Uganda “*African Journal of Microbiology Research* Vol. **5** (12), pp. 1539-1548.
- ❖ **De Wals P. (2007).** Analyses mutationnelles et cinétiques de la β -lactamase TEM-1 d'*Escherichia coli*. Thèse présentée à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de M.Sc. en biochimie. Université de Montréal. 164p.
- ❖ **Dierikx C. M., Duijkeren E., Schoormans A. H. W., Essen-Zandbergen A., Veldman K., Kant A., Huijsdens X. W., Zwaluw K., Wagenaar J. A. and Mevius D. J.(2011).** Occurrence and characteristics of extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses.
- ❖ **Dolejska M., Frolkova P., Florek M., Jamborova I., Purgertova M., Kutilova I., Cizek A., Guenther S. and Literak I.(2011).** CTX-M-15-producing *Escherichia coli* clone B2-O25b-ST131 and *Klebsiella spp.* isolates in municipal wastewater treatment plant effluents. *J. Antimicrob. Chemother*: **66**(12): 2784-2790.
- ❖ **Donskey C.J. (2006).** Antibiotic regimens and intestinal colonization with antibiotic-resistant Gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* **43** Suppl 2: S62-9.
- ❖ **Drame B. G. (1999).** Phénotypes de résistances des souches bactériennes isolées au C.H.U. Aristide Le Dantec. *Th. Pharm.*, Dakar, n°05.

F

- ❖ **Falagas M.E., Karageorgopoulos D.E. (2009).** Extend-spectrum β -lactamase producing organisms. *J. Hosp. Infect.* 1-10.

- ❖ **Fan C. (2008).** L'influence de la lactoferrine, de probiotiques et du SM3 (extrait enrichi en sphingolipides) sur des fonctions immunitaires de la souris. Thèse de Doctorat de nutrition humaine. Industries des sciences et industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech), 195p.
- ❖ **Fauchère J.I et Avril J.I. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses, Paris. 520p.
- ❖ **Faure S. (2009).** Transfert d'un gène de résistance aux β -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. Thèse de Doctorat, mention : Biologie et Santé. Université de Rennes 1, 190p.
- ❖ **Fournier V. (2003).** La résistance bactérienne aux antibiotiques. Université Laval

G

- ❖ **Gangoue-Pieboji J. (2007).** Caractérisation des bêta-lactamase et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de Doctorat ès Sciences en Biochimie. Université de Liège, Centre d'ingénierie des protéines, 127p.
- ❖ **Giufrè M., Graziani C., Accogli M., Luzzi I., Busani L. and Cerquetti M. (2011).** *Escherichia coli* of human and avian origin: detection of clonal groups associated with fluoroquinolone and multidrug resistance in Italy.

H

- ❖ **Hall Barry G. et Barlow M. (2005).** Revised Ambler classification of β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*: 150-151.
- ❖ **Herindrainy P., Randrianirina F., Ratovoson R., Hariniana R., Buisson Y., Genel N., Decre D., Arlet G., Talarmin A. and Richard V. (2011).** Carriage of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in Community Settings in Madagascar. *PLoS ONE*. 6. Issue 7.

I

- ❖ **Ibadene H., Messaia Y., Ammarib H., Alouachea S., Verdet C., Bakoura R. and Arlet G. (2009).** Prevalence of plasmid-mediated AmpC β -lactamases among

Enterobacteriaceae in Algiers hospitals. *International Journal of Antimicrobial Agents* **34** : 340–342.

J

- ❖ **Jacob G. (2011)**. Implication des gènes de régulation de la céphalosporinase chromosomique d'*Enterobacter cloacae* dans le phénotype hyper-producteur de céphalosporinase. Thèse de Doctorat en médecine (diplôme d'étude spécialisé en biologie médicale), université PARIS-DESCARTES (Paris 5),
- ❖ **Jacoby G. A. et Munoz-price L.S. (2005)**. Mechanisms of disease: The New béta-Lactamases. **91**, 352-380.
- ❖ **Jacoby A.G. (2009)**. Plasmid-Mediated Quinolone Resistance. In: Mayers DL. (eds.), antimicrobial Drugs Resistance. Humana Press, p. 207-209.
- ❖ **Janvier F., Mérens A., Delaune D., Soler C. and Cavallo J.D. (2011)**. Faecal carriage of third generation cephalosporin's resistant Enterobacteriaceae in asymptomatic young adults: evolution between 1999 and 2009. *Pathol Biol*; **59(2)**:97–101.

K

- ❖ **Kader AA., Kumar A. et Kamath K.A. (2009)**. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. *Infect Control Hosp Epidemiol*; **28 (9)**:1114–6.
- ❖ **Khelladi K. (2008)**. Etude de la résistance aux β -lactamines des différentes souches d'enterobactéries isolées des prélèvements urinaires. Mémoire de fin de cycle (DES) en microbiologie, université A/MIRA de Béjaïa,
- ❖ **Knothe H., Shah P., Krcmery V., Antal M., and Mitsuhashi S. (1983)**. Transferable resistance to cefotaxime, ceftiofex, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* **11**:315-317.
- ❖ **Kurt Azap Ö., Arslan H., Karaman S.Ö. et Togan T. (2007)**. Risk Factors for Fecal Carriage of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* in the Community. *Turk J Med Sci*: **37 (1)**: 31-38.

L

- ❖ **Laupland K., Church D., Vidakovich J., Mucenski M. and Pitout J. (2008).** Community-onset extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*: Importance of international travel. *J Infect.* **5**:20-6.
- ❖ **Lavigne J.P., Sotto A., Merle C., Jourdan J., Soussy C.J. et Sirot D. (2002).** Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux bêta-lactamines et prévalence en clinique. *Pathol Biol* **50**, 388-93.
- ❖ **Livermore D.M. (1995).** β -lactamine in laboratory and clinical résistance. *Clin. Microbiol. Rev.* **8**: 577-584.
- ❖ **Livermore D. M. (1997).** Acquired carbapenemases. *Jornal of Antimicrob Chemother.* **39**: 673-676.
- ❖ **Livermore D. M. (2008).** Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Journal Compilation European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* **14**: 3–10.
- ❖ **Luvsansharav U-O., Hirai I., Niki M. et al. (2011 a).** Prevalence of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae among healthy adult people in Japan. *J Infect Chemother.* In press.
- ❖ **Luvsansharav U-O., Hirai I., Niki M. et al. (2011 b).** Analysis of risk factors for a high prevalence of extendedspectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in asymptomatic individuals in rural Thailand. *J Med Microbiol*; 60(Pt 5):619–24.
- ❖ **Luvsansharav U., Hirai I., Nakata A., Imura K., Yamauchi K., Niki M., Komalamisra C., Kusolsuk T. and Yamamoto Y. (2012).** Prevalence of and risk factors associated with fecal carriage of CTX-M β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in rural Thai communities. Department of Bioinformatics, Osaka University Graduate School of Medicine. Published by Oxford University Press on behalf of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *Antimicrob. Chemother* **67** (7): 1769-1774 first published online April 18, 2012.

M

- ❖ **Matthew P. et Muller M.D. (2004).** Résistance des bactéries Gram-négatif due aux β -lactamases. *Maladies infectieuses et Microbiologie Conférences scientifiques. University of Toronto* **03**: 1-6.
- ❖ **Mazguene S. (2010).** Contribution à l'étude du portage digestif de bactéries à Gram négatif résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération au niveau de l'hôpital d'Amizour. Mémoire de fin de cycle (Master), université de Béjaia.
- ❖ **Medart J. (2009).** Manuel pratique de nutrition : l'alimentation préventive et curative. Edition de Boeck. Rue des Minimes 39, B-1000, Bruxelles. pp.177-179.
- ❖ **Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude J.D., Timinouni M. (2009).** Résistance aux quinolones de types *qnr*, *aac (6')-Ib-cr* chez les entérobactéries. *Pathologie Biologie; Article in Press.*
- ❖ **Mezhoud H. (2011).** Caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez des bacilles à Gram négatif isolés en médecine de ville. Mémoire de Magister en microbiologie, université de A/Mira de Bejaia, 155p.

N

- ❖ **Nass T., Poirel L. et Nordmann P. (2008).** Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* **14**: 42-52.
- ❖ **Nauciel C. et Vildé J.L. (2005).** Bactériologie médicale. Ed. *Masson*, Paris. 255p.
- ❖ **Nicolas-Chanoine M.H. (2012).** Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi : Ou sont les dangers ? *Réanimation* (2012). **21** : 260-267.
- ❖ **Nicolau DP. (2008).** Carbapenems: a potent class antibiotic. *Expert. Opin. Pharmacother.* **9** (1):23-37.

O

- ❖ **Ouwehand A. and Vesterlund S. (2003).** "Health aspects of probiotics." *IDrugs* **6**(6): 573-80.

P

- ❖ **Page C.P., Curtis M.J., Walker J.M., Sutter M.C. et Hoffman B. (1999).** Infections bactériennes In. Pharmacologie intégrée. Ed. de Boeck-université. pp : 419-444.
- ❖ **Pallecchi L., Malossi M., Mantella A., Gotuzzo E., Trigoso C., Bartoloni A. et al., (2004).** Detection of CTX-M-type β -lactamase genes in faecal *Escherichia coli* isolates from healthy children in Bolivia and Peru. *Antimicrob Agents Chemother*, **48**: 4556–61.
- ❖ **Paterson D. L. and R. A. Bonomo. (2005).** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* **18**:657-86.
- ❖ **Philippon A., Arlet G. and Jacoby G.A. (2002).** Plasmid-determined AmpC-Type β -lactamases *Antimicrobial. Agents and Chemoterapy*. **46** :1–11
- ❖ **Philippon A. et Arlet G. (2006).** β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Ann Biol Clin* **1**: 37-51.
- ❖ **Pitout D., Johann D., Kevin B et Laupland L. (2008).** Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Infect Dis*. **8**: 159–66.

Q

- ❖ **Queenan A.M. And Bush K. (2007).** Carbapenemase: the verstatile β -lactamases. *Clinical Microbiology Rev*; **20** (3): 440-458.

R

- ❖ **Ramdani-Bouguessa N., Mendonc N., Leita J., Ferreira E., Tazir M. and Canic M.(2006).** CTX-M-3 and CTX-M-15 Extended-Spectrum β -Lactamases in Isolates of *Escherichia coli* from a Hospital in Algiers, Algeria. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. **4**: 4584–4586.
- ❖ **Rambaud J-C., Buts J-P., Corthiers G. et Flourié B. (2004).** Flore microbienne intestinale : physiologie et pathologie digestive, Edition Jean Libbey, Paris.
- ❖ **Rodriguez-Bano J., Navarro M-D., Romero L., Martinez-Martinez L., Muniain MA., Perea EJ. et al. (2004).** Epidemiology and clinical features of infections caused by

extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non-hospitalized patients. Clin Microbiol ; **42**: 1089-1094.

- ❖ **Rodriguez-Villalobas H. et Struelens M-J. (2006).** Resistance bactérienne par beta-lactamases à spectre étendu : implication pour le réanimateur. Réanimation. **15**, 205-213.
- ❖ **Robin F., Delmas J., Schweitzer C., Tournilhac O., Lesens O., Chanal C. and Bonnet R. (2007).** Evolution of TEM-Type Enzymes: Biochemical and Genetic Characterization of Two New Complex Mutant TEM Enzymes, TEM-151 and TEM-152, from a Single Patient. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. **51**: 1304–1309.
- ❖ **Ruppé E., Woerther P-L., Diop A. et al. (2009).** Carriage of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* isolates among children living in a remote village in Senegal. Antimicrob Agents Chemother; **53 (7)**:3135–7.
- ❖ **Ruppé E. (2010).** Infections bactériennes Antibiotiques. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi: l'avènement des CTX-M. *Ed. Elsevier Masson*, pp 3-16.

S

- ❖ **Singleton P. (2005).** Bactériologie pour la médecine, la biologie et la bactériologie. *Edition Durot*, Paris.
- ❖ **Silva J., Aguilar C., Becerra Z., Loper-Antunano F. et Garcia R. (1999).** “Extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of enterobacteria in Mexico”. Microbial DRUG resistance. **5** : 189-193.
- ❖ **Silva J., Aguilar C., Ayala G., Estrada M. A., Garza-Ramos U., Lara-Lemus R. and Ledezma L. (2000).** TLA-1: a New Plasmid-Mediated Extended-Spectrum β -Lactamase from *Escherichia coli*. Antimicrobial Agent and Chemotherapy. **44 (4)**:997-1003.
- ❖ **Stecher B. and Hardt WD. (2008).** The role of microbiota in infectious disease. Trends Microbiol **16**: 107-14.
- ❖ **Strömdahl H., Tham J., Melander E., Walder M., Edquist P. J. and Odenholt I. (2011).** Prevalence of faecal ESBL carriage in the community and in a hospital setting in a country of Southern Sweden. Eur J Clin Microbiol Infect. **30** :1159–1162

T

- ❖ **Thomson K. S. and Moland E. S. (2001).** Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **45**: 3548-3554.

V

- ❖ **Valverde A., Coque T-M., Sanchez-Moreno M-P., Rollan A., Baquero F. et Canton R. (2004).** Dramatic increase in prevalence of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during no outbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol*; **42**:4769–75.
- ❖ **Varma, J., Moelbak K., Barrett T., Beebe J., Jones T., Rabatsky-Ehr T., Smith K., Vugia D., Chang H. and F. Angulo (2005).** Antimicrobial-Resistant Nontyphoidal *Salmonella* Is Associated with Excess Bloodstream Infections and Hospitalizations. *J Infect Dis* **191**:554-561.
- ❖ **Vodovar D. (2011).** Etude des patients de reanimation médicale porteurs d'une bactérie exprimant une bêta-lactamase à spectre élargi: spécificité selon le type de bactérie et facteurs prédictifs d'infection. Thèse de Doctorat en Médecine. Université Paris-Descartes (Paris-5), Faculté de médecine, 80p.

W

- ❖ **Woerther P-L., Angebault C., Lescat M. et al. (2010).** Emergence and dissemination of extended-spectrum betalactamase-producing *Escherichia coli* in the community: lessons from the study of a remote and controlled population. *J Infect Dis*; **202(4)**:515–23.

Y

- ❖ **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. et Ouar Korich M.N. (2001).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb.* **91**, 13-14.

- ❖ <http://www.slideshare.net/doctorrao/hodge-test>.
- ❖ <http://www.lahey.org/Studies>.

Annexe I

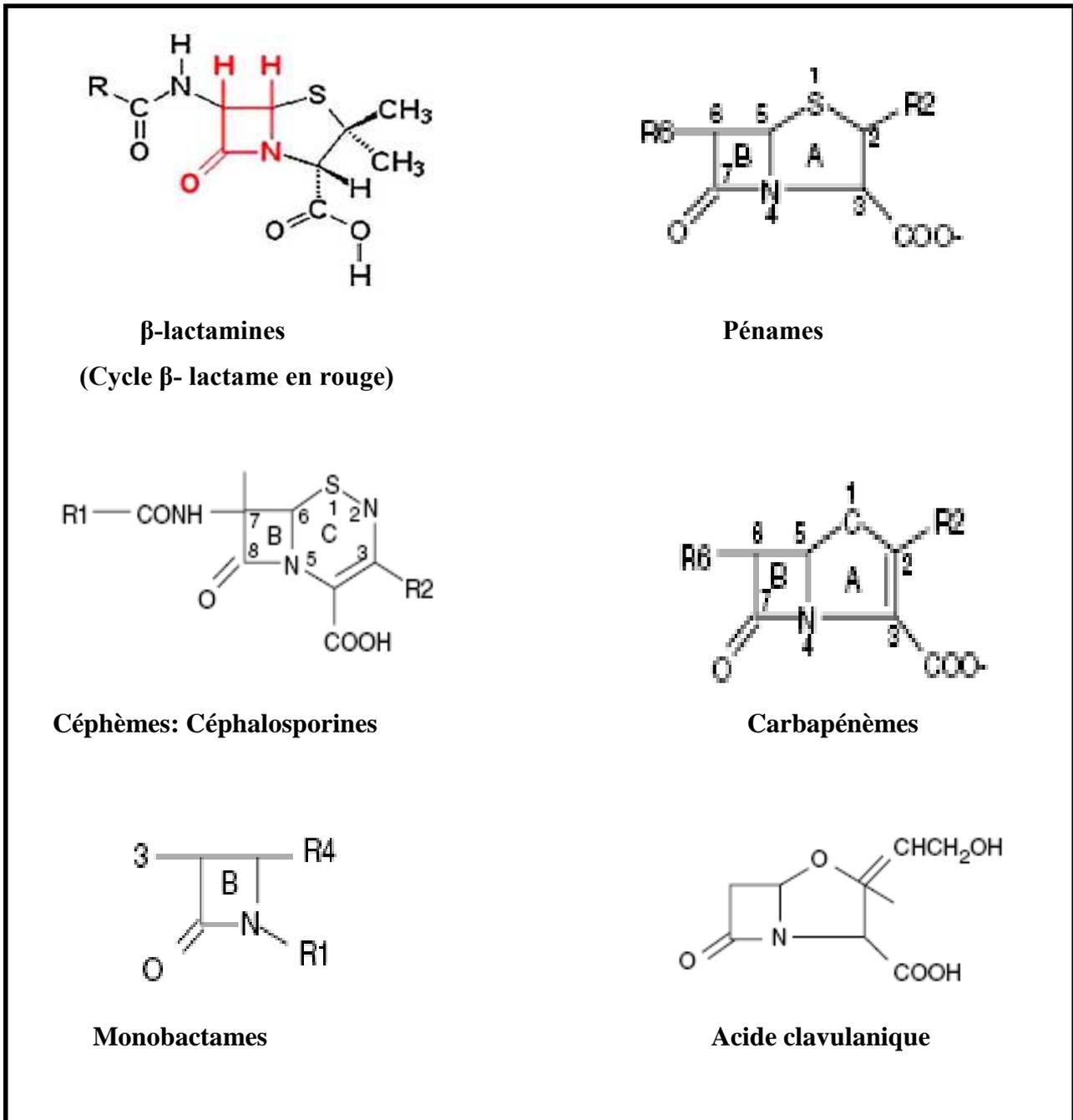


Figure 01: Structure chimique de quelques β-lactamines (Cavallo et al., 2004; Ruppé 2010).

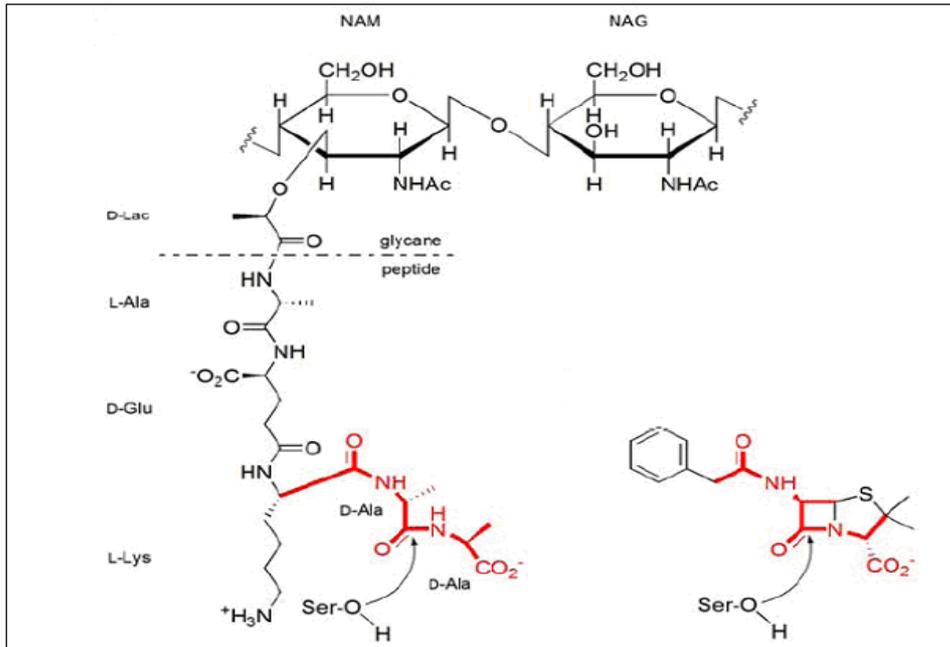


Figure 02 : Blocage de la transpeptidase par fixation de l'antibiotique (De Wals, 2007)

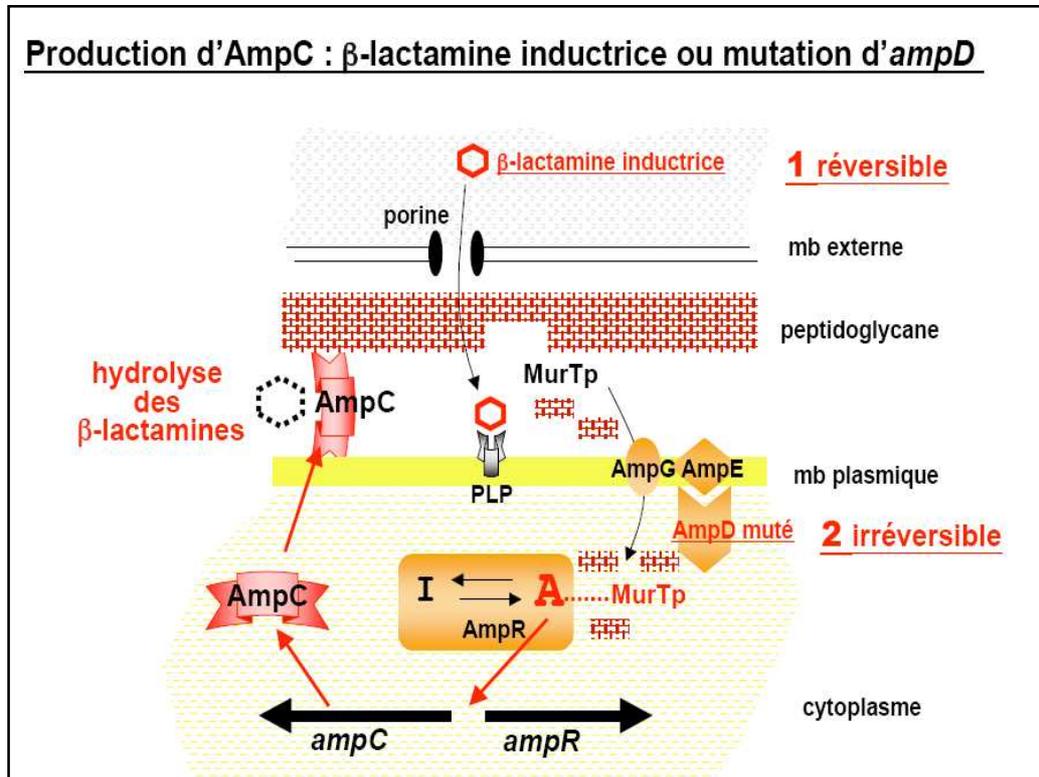


Figure 04 : Système d'induction de l'AmpC

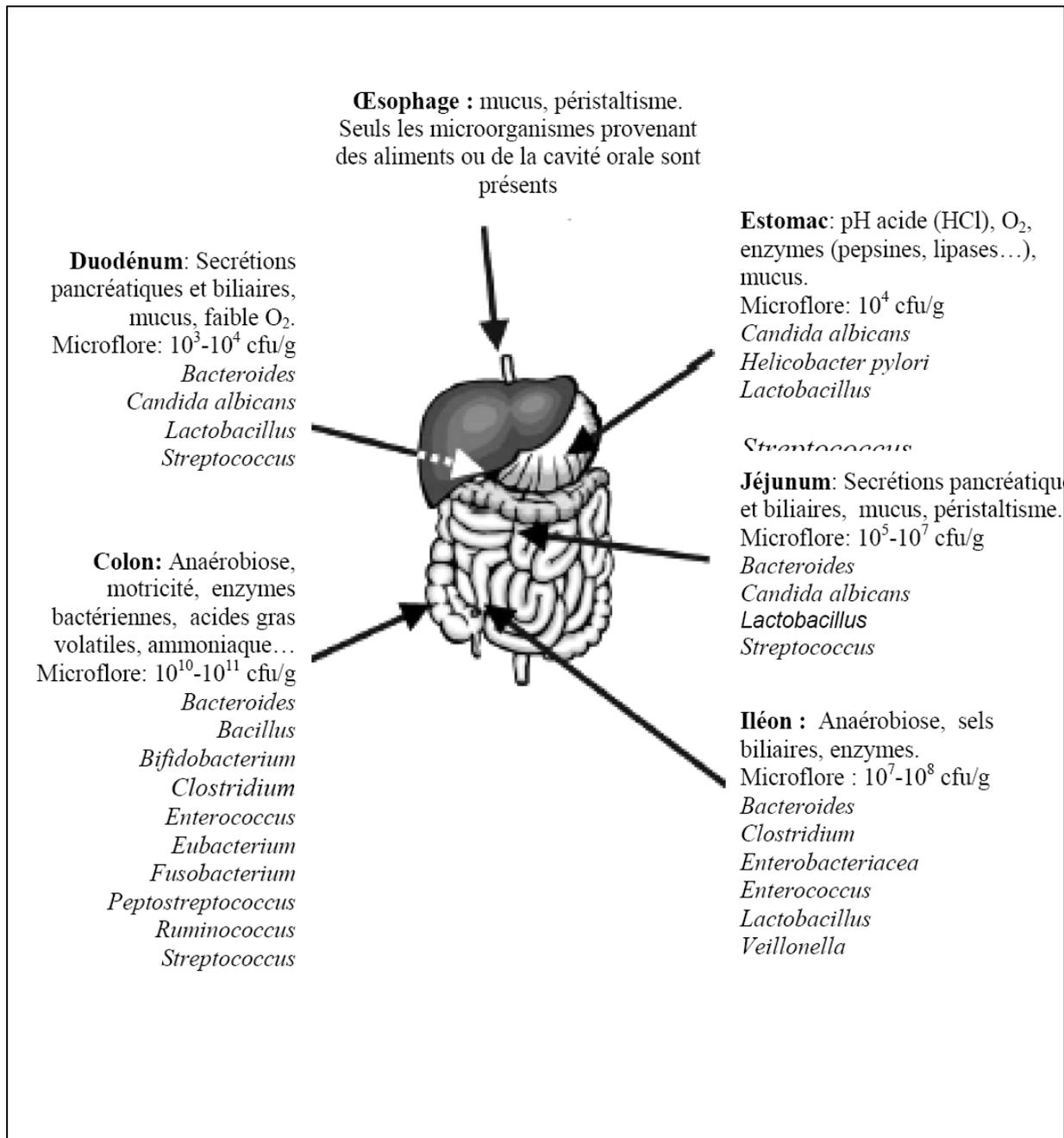


Figure N°05: schéma simplifié décrivant les différents compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflore (Adapté et modifié d'Ouwehand & Vesterlund, 2003)

Annexe II

Tableau N°II : Différentes classes des carbapénèmes avec leurs profils d'hydrolyse et d'inhibition (Queenan et Buch, 2007).

Classe moléculaire	Groupe fonctionnel	Enzymes	Profil d'hydrolyse					Profil d'inhibition	
			Pénicillines	C1G et C2G	C3G et C4G	Aztréonam	Carbapénèmes	EDTA	Acide clavulanique
A	2f	NMC	+	+	+	+	+	+	+
		IMI	+	+	+	+	+	+	+
		SME	+	+	+	+	+	+	+
		KPC	+	+	+	+	+	+	+
		GES	+	+	+	+	#	+	+
B	3	IMP	+	+	+	+	+	+	+
		VIM	+	+	+	+	+	+	+
		GIM	+	+	+	+	+	+	+
		SPM	+	+	+	+	+	+	+
D	2d	OXA	+	+	#	+	#	+	#

Annexe III

Questionnaire :

Code :	Initiales de nom et prénoms :	Age :	Sexe :	Niveau d'étude :	Fillière :
Cité universitaire :	Bloc :	Etage :	Chambre:		
Nombre d'étudiants par chambre :	Nombre de lits par chambre :	Résidant dans la même cité depuis :			
Transfert d'une autre université : oui/non	Date :	Université d'origine :			
Transfert d'une autre cité universitaire : oui/non	Date :				
Voyage à l'étranger : : Oui/Non			Date :	Pays :	
Maladie sous-jacente :			Antécédents chirurgicaux :	Date :	
Prélèvement 1 :			Date de prélèvement 1 :		
Hospitalisation antérieure : Oui/Non			Date :	Hôpital :	
Antibiothérapie dans les 3 à 12 mois précédents : Oui/Non			Date :	ATB administrés :	
Antibiothérapie en cours: Oui/Non	Date :	ATB administrés :			

Résultats :

Annexe IV

Composition des milieux de culture en g / l d'eau distillée

Gélose nutritive :

Extrait de viande.....	5
Peptone.....	10
Chlorure de sodium.....	5
Agar.....	20

pH: 7

Gélose EMB (Eosin Méthylène Blue):

Peptone.....	10
Lactose.....	10
Dipotassium-hydrogene phosphate.....	2
Méthylène bleu.....	0,065
Eosine y.....	0,4
Agar.....	15

pH : 7,1

Gélose Hektoen:

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

pH : 7.5

Gélose Mc Conkey:

Peptone.....	20
Lactose.....	10
Sels biliaires.....	1.5
Cristal violet.....	0.001
Rouge neutre.....	0.05
Chlorure de sodium.....	5
Agar.....	15

pH : 7,4

Gélose Mannitol mobilité :

Extrait de viande.....	3
Peptone.....	15
Manitol.....	10
Nitrate de potassium(KNO ₃).....	10
Rouge de phénol.....	0,05
Agar.....	4

pH : 7,8

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de bœuf.....	30
Peptone de caséine.....	17,5
Amidon.....	1, 5
Agar.....	17

pH : 7,4

Milieu de Citrate de Simmons :

Phosphate d'ammonium.....	1
Phosphate bipotassique.....	1
Chlorure de sodium.....	5
Citrate de sodium.....	5
Sulfate de magnésium.....	0,20
Bleu de Bromothymol.....	0,08

Agar.....18

pH : 6,9

Milieu TSI (Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de bœuf.....3

Extrait de levure.....3

Peptone.....20

Chlorure de sodium.....5

Citrate ferrique.....0,3

Thiosulfate de sodium.....0,3

Lactose.....10

Glucose.....1

Saccharose.....10

Rouge de phénol.....0,05

Agar.....12

pH : 7,4

Bouillon nitraté :

Infusion de cœur cervelle.....25

Nitrate de sodium.....10

pH : 7,6-7,8

Bouillon nutritif :

Peptone10

Chlorure de sodium5

Extrait de viande.....5

pH : 7,2

Milieu urée- indole :

Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄).....	1
Phosphate bipotassique (K ₂ HPO ₄).....	1
Chlorure de sodium	5
Alcool à 95°.....	1ml
L tryptophane.....	3
Urée [CO(NH₂)₂].....	20
Rouge de phénol à 1%.....	25ml

pH : 6,7

Bouillon Clark et Lubs :

Peptone.....	5
Glucose.....	5
Hydrogenophosphate de potassium.....	5

pH : 7,5

Bouillon Trypticase soja :

Peptone trypsique de caséine	17
Peptone papainique de soja	3
Chlorure de Sodium	5
Phosphate bipotassique	2
Glucose	2

pH : 7.3

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 :

α -naphtol.....6g

Alcool à 90°100 ml

VPII:

NaOH 4N

Rouge de méthyle (RM) :

Rouge de méthyle0,5 g

Alcool éthylique à 60%100 ml

Annexe V

Diamètres des zones d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2010.

Antibiotiques	Abréviation	Charge µg/ml	Ø critique (mm)		Concentration critique µg /ml	
			S	R	S	R
Amoxicilline/ac. clavulanique	AMC	20 /10	≥21	<16	≤ 4/2	> 8/2
Ticarcilline/ac. Clavulanique	TCC	75/10	≥24	<22	≤ 8/2	> 16/2
céfoxitine	FOX	30	≥22	<15	≤ 8	> 32
Céfotaxime	CTX	30	≥26	<23	≤ 1	> 2
Céftazidime	CAZ	30	≥26	<19	≤ 1	> 8
Céfépime	FEP	30	≥24	<17	≤ 1	> 8
Cefpirome	CPO	30	≥24	<17	≤ 1	> 8
Aztréonam	ATM	30	≥27	<21	≤ 1	> 8
Imipénème	IMP	10	≥24	<17	≤ 2	> 8
Acide nalidixique	NA	30	≥20	<15	≤ 8	> 16
Ciprofloxacine	CIP	5	≥25	<22	≤ 0.5	> 1
Gentamicine	GN	10	≥18	<16	≤ 2	> 4
Sulfaméthoxazole/ Triméthoprim	SXT		≥16	<10	≤2/38	>8/152
Rifampicine (Rifampin)	RA	30	≥ 19	<14	≤ 4	> 16

Annexe VI

Résultats de l'identification

Code	NR	URE	IND	GLU	LAC	GAZ	H ₂ S	CIT	MAN	MOB	VP	RM	Souche
IT7	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT8	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT9	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT10	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT11	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT12	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	<i>M. morganii</i>
IT14	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT15	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>K.p</i>
IT16	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT20	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT23	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT27	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT50	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT55	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT58	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	<i>Enterobacter sp.</i>
IT78	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
IT83	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>C.freundii</i>
IT101	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	<i>M.morganii</i>
17.5	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.6	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.7	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.10	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>K.p</i>
17.10	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.11	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>C.freundii</i>
17.13	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.19	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Salmonella sp.</i>
17.23	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.25	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.27	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
17.61	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Salmonella sp.</i>
17.63	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
17.65	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>C. freundii</i>
17.71	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	<i>M.morganii</i>
17.80	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
M.2	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
M.7	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>

Annexes

Code	NR	URE	IND	GLU	LAC	GAZ	H ₂ S	CIT	MAN	MOB	VP	RM	Souche
M.14	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
M.15	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
M.16	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
M.20	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	<i>Enterobacter sp.</i>
M.35	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>C.freundii</i>
M.36	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
M.48	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>S.marcescens</i>
M.52	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.54	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>C. freundii</i>
M.63	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
M.73	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.74	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.75	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>
M.76	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>P. mirabilis</i>
M.83	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.84	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.85	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.86	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>P. mirabilis</i>
M.87	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
M.88	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>
M.97	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>

T.3	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	<i>E.cloacae</i>
T.9	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
T.14	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	<i>E.cloacae</i>
T.19	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	<i>Enterobacter sp.</i>
T.21	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.22	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.39	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.44	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
T.53	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.54	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.55	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.56	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.57	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>S.marcescnes</i>
T.72	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp</i>
T.77	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Kp.</i>
T.84	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.87	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
T.88	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
T.91	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>E.coli</i>

Annexe VII

Résultats de l'antibiogramme

Cd	Souche	1 ^{er} Antibiogramme							Antibiogramme complémentaire							
									β-lactamines			Autres				
		AMC/ TCC	FO X	CT X	CA Z	CI P	IP M	Sy n	AT M	FE P	CP O	SX T	G N	NA	RA	
IT7	<i>E.coli</i>	S	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT8	<i>E.coli</i>	R	S	R	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
IT9	<i>E.coli</i>	R	R	R	R	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
IT10	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT11	<i>E.coli</i>	R	S	R	R	S	S	Pr	S	R	I	R	S	R	R	
IT12	<i>M.morganii</i>	R	R	S	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
IT14	<i>E.coli</i>	R	S	S	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
IT15	<i>K.p</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT16	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	R	S	Ab	S	S	S	R	S	R	R	
IT20	<i>E.coli</i>	R	S	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
IT23	<i>E.coli</i>	R	S	R	R	S	S	Pr	S	R	R	S	S	S	I	
IT27	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT50	<i>E.coli</i>	R	S	R	R	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
IT55	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT58	<i>Enterobacter sp.</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT78	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
IT83	<i>C.freundii</i>	R	R	S	I	R	S	Ab	S	S	S	S	S	R	S	
IT101	<i>M.morganii</i>	R	R	R	S	R	S	Ab	S	I	S	S	I	I	R	
17.5	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.6	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.7	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.10	<i>K.p</i>	R	R	S	R	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
17.10	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.11	<i>C.freundii</i>	R	R	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.13	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.19	<i>Salmonella sp.</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	

Ab : Absence ; I : Intermédiaire; Pr. : Présence ; R : Résistant; S : Sensible; Syn. : synergie.

Cd	Souche	1 ^{er} Antibiogramme							Antibiogramme complémentaire							
									B-lact			Autres				
		AM C/ TCC	FO X	CT X	CA Z	CI P	IP M	Sy n	AT M	FE P	CP O	SX T	G N	NA	RA	
17.23	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	I	S	S	R	I	R	S	
17.25	<i>E.coli</i>	R	S	R	R	R	S	Pr	S	S	I	S	S	R	R	
17.27	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.61	<i>Salmonella</i> <i>a sp.</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
17.63	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	I	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
17.65	<i>C.freundii</i>	R	R	R	R	R	S	Pr	R	R	R	R	R	R	R	
17.71	<i>M.morganii</i>	R	I	R	R	I	S	Pr	R	I	S	S	S	R	R	
17.80	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
M.2	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
M.7	<i>E.coli</i>	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
M.14	<i>E.coli</i>	R	R	R	R	R	S	Pr	R	R	R	R	R	R	I	
M.15	<i>E.coli</i>	R	R	R	R	R	S	Ab	R	S	S	R	I	R	R	
M.16	<i>E.coli</i>	R	S	S	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
M.20	<i>Enterobacter</i> <i>ter sp.</i>	R	R	I	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
M.35	<i>C.freundii</i>	R	R	R	R	R	S	Pr	R	R	R	R	R	R	R	
M.36	<i>E.coli</i>	R	R	R	R	R	S	Ab	S	S	S	S	R	S	R	
M.48	<i>S. marsescens</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	S	
M.52	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
M.54	<i>C.freundii</i>	R	R	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
M.63	<i>E.coli</i>	R	S	R	I	R	S	Pr	I	R	R	R	R	R	I	
M.73	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	R	S	
M.74	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	I	S	
M.75	<i>P.mirabilis</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	S	
M.76	<i>P.mirabilis</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
M.83	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
M.84	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	S	
M.85	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	S	
M.86	<i>P.mirabilis</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	I	R	
M.87	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
M.88	<i>P.mirabilis</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
M.97	<i>Kp.</i>	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	

Ab : Absence ; I : Intermédiaire ; Pr. : Présence ; R : Résistant ; S : Sensible ; Syn. : Synergie.

Cd	Souche	1 ^{er} Antibiogramme							Antibiogramme complémentaire							
									B-lact			Autres				
		AMC/ TCC	FOX	CTX	CAZ	CIP	IPM	Syn	ATM	FE P	CP O	SXT	GN	NA	RA	
T.3	Enterobacter sp.	R	R	S	R	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	I	
T.9	Kp.	S	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
T.14	Enterobacter sp.	S	R	R	R	S	S	Pr	S	I	S	S	S	S	R	
T.19	Enterobacter sp.	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
T.21	E.coli	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
T.22	E.coli	R	S	I	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	I	
T.39	E.coli	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
T.44	Kp.	R	I	R	I	R	S	Pr	S	R	S	S	S	S	R	
T.53	E.coli	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
T.54	E.coli	R	S	S	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
T.55	E.coli	R	S	S	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
T.56	E.coli	R	S	S	I	R	S	Ab	I	S	S	S	I	S	R	
T.57	S. marcescens	R	R	R	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
T.72	Kp.	R	S	I	I	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	R	
T.77	Kp.	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
T.84	E.coli	R	S	S	S	S	S	Ab	S	S	S	S	S	S	S	
T.87	E.coli	R	R	R	R	R	S	Pr	R	R	R	R	S	R	S	
T.88	Proteus sp.	R	R	R	R	S	S	Pr	R	R	R	S	S	S	R	
T.91	E.coli	R	I	R	R	R	S	Pr	R	R	R	S	R	R	I	

Ab : Absence ; I : Intermédiaire ; Pr. : Présence ; R : Résistant ; S : Sensible ; Syn. : Synergie.

Annexe VIII

Analyses statistiques des données

- Sexe

Tableau N°XII : Fréquence des EB-BLSE selon le sexe

	Souches résistantes	Souches sensibles	totale	Taux de résistance
Femme	8	26	34	23,52%
Homme	21	21	42	50%
Totale	29	47	76	

On note par H0 l'hypothèse que la répartition des EB-BLSE selon le sexe et la même que celle de la population totale

$$X^2 = 76 (8 \times 21 - 21 \times 26)^2 / 29 \times 47 \times 34 \times 42$$

$$X^2_{\text{obs}} = 5,57$$

$$\text{ddl} = 2 - 1 = 1$$

La valeur de X^2_{th} observée sur la table pour ddl=1 est 3,84 qui correspond à 5%

$$X^2_{\text{obs}} > X^2_{\text{th}}, \text{ donc H0 est rejeté.}$$

L'analyse statistique des données selon le sexe révèle une différence significative pour le taux de portage d'EB-BLSE.

Alors, Dans notre étude le sexe est considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE.

- **Antibiothérapie préalable**

Tableau N°XIII: fréquence des EB-BLSE selon l'antibiothérapie préalable.

	Souches résistantes	Souche sensible	Totale	Taux de résistance
Oui	10	13	23	43,47%
Non	19	34	53	35,84%
Total	29	47	76	

On pose H0 l'hypothèse que la répartition des EB-BLSE selon l'antibiothérapie et la même que celle de la population totale

$$X^2_{obs} = 76 (10 \times 34 - 19 \times 13)^2 / 29 \times 47 \times 23 \times 53$$

$$X^2_{obs} = 0,39$$

$$ddl = 2 - 1 = 1$$

La valeur de X^2_{th} observée sur la table pour $ddl=1$ est 3,84 qui correspond à 5% (0,05).

$X^2_{obs} < X^2_{th}$, donc H0 est accepté.

L'analyse statistique des données selon l'antibiothérapie préalable ne révèle pas une différence significative pour le taux de portage d'EB-BLSE.

L'antibiothérapie préalable dans notre étude n'est pas considérée alors comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE.

- **Résidence**

Tableau N° XIV : fréquence des EB-BLSE selon les résidences.

	EB-BLSE	Total	Fréquence théorique de résistance	Taux de résistance
1000 lits	16	23	8,77	69,56%
Targa Ouzamour	6	19	7,25	31,57%
ITE(Aamriw)	3	19	7,25	15,78%
17-O-1961	4	15	5,72	26,66%
Total	29	76		

On pose H0 l'hypothèse que la répartition des EB-BLSE selon l'antibiothérapie et la même que celle de la population totale

$$X^2 \text{ obs} = \sum \frac{(R_{\text{obs}} - R_{\text{th}})^2}{R_{\text{th}}}$$

$$X^2 \text{ obs} = (16-8,77)^2/8,77 + (6-7,25)^2/7,25 + (3-7,25)^2/7,25 + (4-5,72)^2/5,72$$

$$X^2 \text{ obs} =$$

$$\text{ddl} = 4-1=3$$

La valeur de X^2 th lue sur la table pour ddl=1 est 7,81 qui correspond à 5% (0,05)

$X^2 \text{ obs} > X^2 \text{ th}$, donc H0 est rejeté.

L'analyse statistique des données selon la résidence révèle une différence significative dans la distribution des fréquences d'EB-BLSE entre les résidences.

Résumé

Le but de cette étude était de déterminer la prévalence et les facteurs de risque associés au portage fécal d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) chez des individus asymptomatiques en milieu communautaire. Ils sont représentés par des étudiants résidents dans certaines cités universitaires de la wilaya de Bejaia. Des échantillons de selles et des questionnaires sont obtenus auprès de 267 résidents volontaires provenant de 4 cités universitaires. 76 souches d'entérobactéries ont été isolées et identifiées. Des taux de résistance importants ont été enregistrés vis-à-vis de certaines β -lactamines à savoir CAZ, AMC et CTX alors qu'aucune résistance n'a été enregistrée à l'égard de l'imipénème. 10,86% est la fréquence des EB-BLSE dans notre étude (29/267) dont 16 souches (soit 5,99%) ont été isolées au niveau de la résidence de 1000 lits. Le phénotype A (BLSE de type CTX-M) est le plus fréquent dans cette étude. La résistance associée à d'autres antibiotiques a été également enregistrée vis-à-vis de l'acide nalidixique, la ciprofloxacine, la gentamicine et le triméthoprime-sulfaméthoxasol. Le seul facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE a été alors déterminé dans cette étude qui est le sexe masculin.

Mots clés : portage fécal, cités universitaires, EB-BLSE, communautaire, CTX-M.

Abstract

The aim of this study was to determine the prevalence and risk factors associated to the fecal carriage Enterobacteria producing Extended Spectrum Beta-lactamases (EB-ESBL) at asymptomatic individuals in community. They are represented by students who live in some residence hall of the wilaya of Bejaia. Fecal swab and questionnaires are obtained from 267 volunteers residents. 76 Enterobacteria strains were isolated and identified. High rates of resistance were recorded towards some β -Lactams as CAZ, AMC and CTX. While no resistance was noticed for the imipenem. 10, 86 % is the frequency of the EB-ESBL in our study (29/267) among which 16 strains (5, 99 %) were isolated at "1000lits" residence. The phenotype A (TYPE CTX-M) is the most frequent in this study. We can highlight the resistance associated with the other antibiotics, towards the nalidixic acid, the ciprofloxacin, the gentamicin and the trimethoprim-sulfamethoxazole. The only risk factor of acquisition of EB-ESBL was then determined in this study which is the male sex.

Key words: fecal carriage, residence hall, ESBL-EB, community, CTX-M.