

# Table des matières

AVANT-PROPOS

TABLE DES MATIERES

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL

INTRODUCTION

1

**PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

2

I. ENTEROBACTERIES

2

II. ANTIBIOTIQUES

4

III. BETA-LACTAMINES

5

VI. RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES

7

V. PORTAGE INTESTINAL DES BETA-LACTAMASES A SPECTRE ELARGI :

10

**PARTIE II : MATERIEL & METHODES**

12

I. PRELEVEMENTS

12

II. PRIMO-CULTURE

12

III. CULTURE ET ISOLEMENT

12

IV. CARACTERISATION DES GERMES

12

V. IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE DES ISOLATS

13

VI. ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

14

VII. TEST DE SYNERGIE

15

**PARTIE III : RESULTATS & DISCUSSION**

16

I. RESULTATS

16

II. DISCUSSION

20

**CONCLUSION & PERSPECTIVES**

22

## Liste des abréviations

<b>BLSE</b>	: Bêta lactamase à spectre étendu
<b>EBLSE</b>	: Entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre étendu
<b>AMC</b>	: Amoxicilline associé à l'acide clavulanique
<b>CTX</b>	: Céfotaxime
<b>CAZ</b>	: Ceftazidime
<b>FEP</b>	: Céfépime
<b>ATM</b>	: Aztréonam
<b>CIP</b>	: Ciprofloxacine
<b>ETP</b>	: Ertapénem
<b>C1G</b>	: Céphalosporine de 1 <sup>ère</sup> génération
<b>C2G</b>	: Céphalosporine de 2 <sup>ème</sup> génération
<b>C3G</b>	: Céphalosporine de 3 <sup>ème</sup> génération
<b>C4G</b>	: Céphalosporine de 4 <sup>ème</sup> génération
<b>PLP</b>	: Protéines liant les pénicillines
<b>CMI</b>	: Concentration minimal inhibitrice
<b>BHI</b>	: (Brain Heart Infusion) infusion cœur cerveau
<b>CA-SFM</b>	: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

## Présentation de la structure d'accueil

L'IPM est un établissement public, doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière, placé sous la tutelle administrative du ministre chargé de la santé publique et dont le siège est à Casablanca.

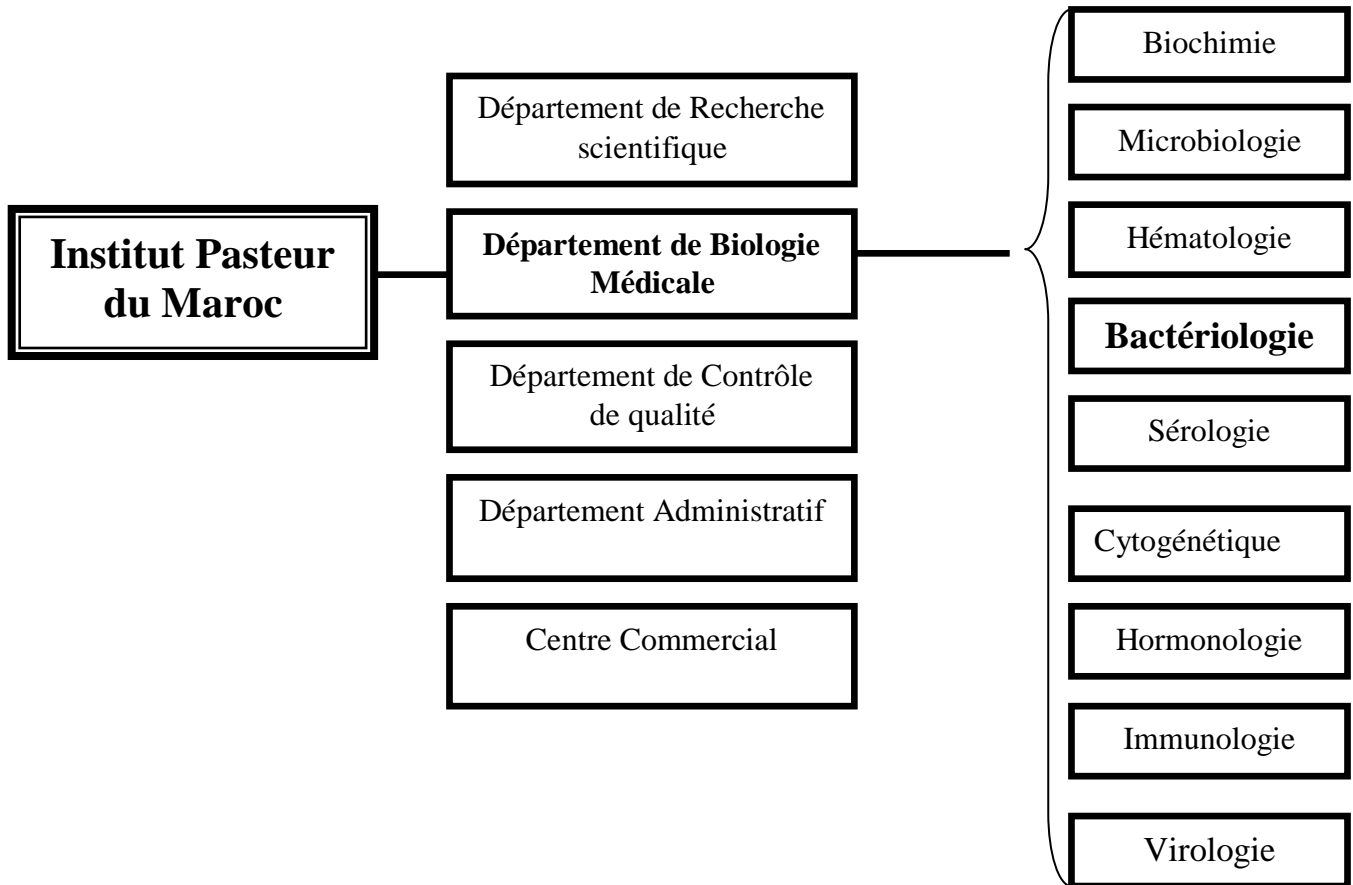
Il est actuellement dirigé par le Professeur Naima EL MDAGHRI depuis le 23 Mai 2013, Mr Mekki Lalaoui est secrétaire général depuis février 2010.

L'Institut Pasteur est chargé :

- de poursuivre des recherches sur les maladies infectieuses et parasitaires de l'homme, des animaux et des plantes. Il peut être chargé, par le ministre chargé de la santé publique, de missions permanentes ou occasionnelles, d'enquêtes, d'expertises ou d'analyses se rapportant à ces disciplines.
- de contribuer, le cas échéant, à l'enseignement de la microbiologie et de la parasitologie ainsi que de recevoir des stagiaires et des travailleurs marocains ou étrangers.
- de préparer ou d'importer des sérums, vaccins, ferments et produits biologiques nécessaires aux besoins du pays en ce qui concerne la médecine humaine.

L'IPM est membre du Réseau International des Instituts Pasteur qui sont au nombre de 32. Il est lié au réseau par un accord de collaboration qui a été réactualisé en mars 2010. Cet accord met en exergue le respect des valeurs pasteuriennes et la poursuite de missions communes, adaptées aux spécificités de chaque région.

Depuis 2006, l'IPM est aussi membre de l'Association Internationale des Instituts Nationaux de Santé Publique (IANPHI).



## Organigramme de l'IPM

## Introduction

Devant l'utilisation intense des antibiotiques d'une manière incontrôlée, les entérobactéries qui constituent une très vaste famille de bacilles gram négatif, ont développé plusieurs mécanismes de résistance pour contrecarrer l'action des bêtalactamines. La majorité des entérobactéries peuvent se transformer en pathogènes opportunistes, la grande crainte des scientifiques est d'entrer dans une impasse thérapeutique où aucun antibiotique ne sera efficace contre de telles infections. Ces souches bactériennes peuvent également être à l'origine de contamination des personnes qui fréquentent le porteur par transmission interhumaine, ou contaminer l'environnement (l'eau, les végétaux, les légumes...) et par conséquent l'Homme et les animaux, ce qui représente un problème de santé publique à l'échelle mondiale.

Dans le contexte de l'étude de la résistance aux beta lactamases, ce travail au sein de l'institut pasteur de Casablanca a été entrepris afin:

- d'étudier la répartition selon le sexe et la région des entérobactéries productrices de beta lactamase à spectre étendu.
- de comparer le taux de résistance de ces entérobactéries au niveau de la ville de Casablanca et de la ville de Settat.
- d'évaluer la sensibilité de ces souches aux antibiotiques.

# Partie I : synthèse bibliographique

## I. ENTEROBACTERIES

### 1. Définition

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- Bacilles à Gram négatif ;
- immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche ;
- aérobies anaérobies facultatifs ;
- se développant aisément sur milieu ordinaire ;
- fermentant le glucose ;
- ne possédant pas d'oxydase ;
- possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae* ;
- réduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*) .(29)
- Non sporulés

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux. Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif des entérobactéries pouvant proliférer en abondance dans l'environnement (sols et eaux) et participer aux grands cycles de dégradation des matières organiques (13).

### 2. Taxonomie

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. On peut les classer selon le tableau 1 (Annexe 2) (31).

### 3. Caractères bactériologiques

#### 3.1. Les caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2-3  $\mu$  de long sur 0,6  $\mu$  de large, généralement polymorphes. Les espèces mobiles les plus nombreuses le sont grâce à une ciliature péritriche. Certaines sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiella*. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des *fimbriae* ou *pili* qui sont des facteurs d'adhésion (10, 29).

#### 3.2. Les caractères cultureux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose.

Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose(13, 31).

### 3.3. Les caractères biochimiques

C'est sur l'étude des caractères biochimiques que repose en pratique le diagnostic de genre et d'espèce qui ne doit être abordé qu'après que le diagnostic de famille ait été établi avec certitude(29)

## 4. Etudes des principaux genres

### 4.1. *Escherichia*

Hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif(29).

### 4.2. – *Shigella*

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles sont responsables de l'historique « dysenterie bacillaire » qui décimait les armées en campagne(29).

1

### 4.3. *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés.

On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine(13).

### 4.4. *Proteus-Providencia*

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, le groupe *Proteus-Providencia* se distingue essentiellement par les deux caractères suivants :

Présence d'une tryptophane désaminase ;

Envahissement constant de la gélose nutritive. Ce sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles peuvent dans certains cas se montrer pathogènes et provoquer des infections très diverses : entérites, cystites, otites, méningites. Ces infections sont de plus en plus fréquentes (13, 31).

### 4.6. *Salmonella*

Les Salmonelles Présentes dans l'eau et dans diverses denrées alimentaires, sont pathogènes, soit exclusivement pour l'homme (*Salmonella typhi*), soit exclusivement pour l'animal (*Salmonella abortus ovis*).

Chez l'homme, elles sont responsables de la fièvre typhoïde et de gastro-entérites.

La morphologie est celle des entérobactéries. Certaines souches habituellement mobiles peuvent à l'isolement se présenter sous forme immobile.

Les colonies mesurent en général 1,5 à 3 mm après 24 heures à 37°C et apparaissent lors de l'isolement sous forme S(11, 13).

## II. ANTIBIOTIQUES

### 1. Généralités

#### 1. Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, chimique produite par synthèse, ou semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes:

- Activité antibactérienne
- Activité en milieu organique
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte(7).

#### 1.2. Mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

Ils agissent par :

- Toxicité sélective au niveau de la :
  - Synthèse de la paroi bactérienne
  - Membrane cytoplasmique
  - Synthèse des protéines
  - Acides nucléiques
- Inhibition compétitive : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (8).

#### 1.3. Critères de Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- L'Origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- Le Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- Le Spectre d'activité : Le spectre d'activité, antibactérien d'un antibiotique est destiné à caractériser l'activité microbiologique d'un antibiotique sur une espèce bactérienne en tenant compte des résistances naturelles et acquises(14).
- La Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex: cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a héli-synthèse(8).



## 2. Classification des antibiotiques :

La classification repose sur leur mécanisme d'action et leur structure chimique, lesquels conditionnent leur spectre d'activité.

### 2.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

La paroi bactérienne est essentiellement constituée par le peptidoglycane. Celui-ci lui confère une rigidité ou une résistance physique lui permettant de faire face aux différentes agressions

*(Annexe 2 : Tableau 2)*

### 2.2. Antibiotiques actifs sur les membranes

*(Annexe 2 : Tableau 3)*

### 2.3. Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques

*(Annexe 2 : Tableau 4)*

### 2.4. Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques

*(Annexe 2 : Tableau 5)*

### 2.5. Antibiotiques inhibent la synthèse des folates

*(Annexe 2 : Tableau 6)*

## III. BETA-LACTAMINES

### 1. Généralités

Depuis leur première utilisation en 1942, les Bêtalactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus largement développée et la plus diversifiée dans le monde. Cette utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et le faible coût de certaines molécules (15).

### 2. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action est le même pour toutes les molécules de la famille des bêta-lactamines. Les  $\beta$ -lactamines sont des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane) par inactivation des principales enzymes impliquées dans cette construction et regroupées sous le terme de PLP (Protéines Liant les Pénicillines)

- Transpeptidases
- Endo-peptidases
- Carboxypeptidases

En mimant la structure tridimensionnelle de la séquence D-Ala-D-Ala, les bêta-lactamines se comportent comme des inhibiteurs de la transpeptidase, enzyme essentielle à la synthèse de la paroi bactérienne. Elles forment un lien covalent avec l'enzyme et

empêchent donc toute activité de celui-ci, les bêta-lactamines sont des substrats-suicides (5).

Ceci-dit, la liaison des  $\beta$ -lactamines aux PLP et l'arrêt de croissance qui s'en suit (effet bactériostatique) ne suffisent pas à engendrer la mort cellulaire, l'effet bactéricide des  $\beta$ -lactamines résulte de l'activation d'enzymes lytiques bactériennes (auto lysine) suite à l'altération du peptidoglycane (Effet bactéricide) (12).

### 3. Classification des bêta-lactamines

Au cours des années 1980, le nombre de bêtalactamines naturelles ou synthétiques a augmenté de façon spectaculaire. Les composés qui appartiennent à cette famille se caractérisent par un squelette commun, le cycle bêta-lactame (voir Fig.1).

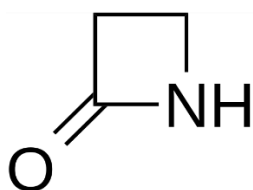


Figure 1 : Cycle Bêta-lactame (34)

C'est à partir de cette structure de base et de sa structure adjointe que la classification des bêtalactamines a été établie. Les pénicillines et les céphalosporines se distinguent par la structure de leur second noyau et de leur(s) chaîne(s) latérale(s). Les bêtalactamines constituent la principale famille d'antibiotiques. (Tableau 7 Annexe 2)

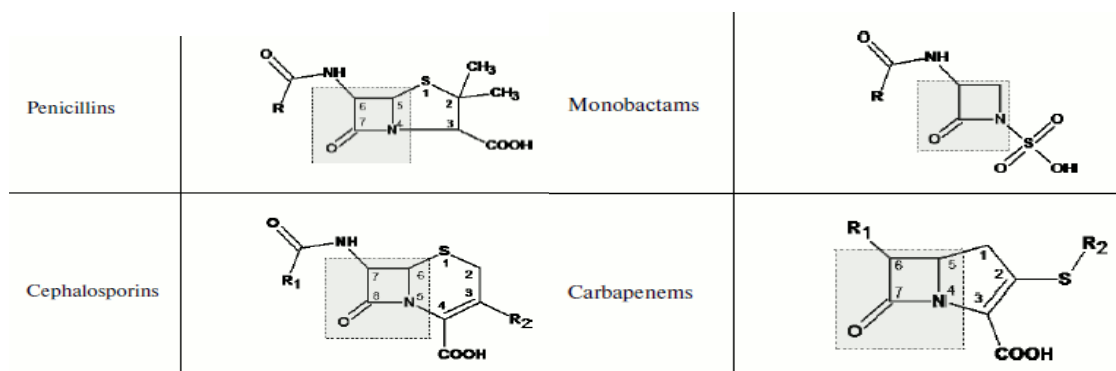


Figure 2 : Structure des différents groupes de Bêta-lactamines (36)

## VI. RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES

### 1. Définition de la résistance

Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable *in vivo* (19).

### 2. Mécanismes de résistances aux antibiotiques

Les principaux mécanismes de résistances des germes aux antibiotiques sont de trois ordres (38) :

1. L'antibiotique ne peut pas atteindre sa cible, soit par imperméabilité de la paroi (exemple : résistance à l'imipénème par défaut d'expression de la porine), soit par un mécanisme d'efflux (pompage actif de l'antibiotique hors de la cellule bactérienne).
2. L'antibiotique ne peut se fixer sur sa cible il peut y avoir une cible supplémentaire ou une baisse de l'affinité par modification de la cible.
3. L'antibiotique peut être inactivé avant d'atteindre sa cible : il s'agit alors le plus souvent d'un mécanisme enzymatique avec notamment les bêta-lactamases, et il s'agit dans ce cas d'un mécanisme de résistance majoritaire universellement répandu à travers de très nombreux genres bactériens.

#### 2.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle est un caractère propre à une espèce bactérienne au même titre que tout caractère culturel ou biochimique elle concerne (presque) 100% des souches de l'espèce concernée et préexiste à l'introduction de tout antibiotique.

La résistance naturelle est chromosomique, portée par des gènes d'expression constitutive (la résistance des *K. pneumoniae* à l'ampicilline) ou inductible (*Enterobacter cloacae* et C<sub>3</sub>G) (38).

#### 2.2. La résistance acquise

La résistance acquise ne concerne qu'une fraction des souches elle nécessite un événement génétique (mutation ou acquisition de plasmides), et son niveau augmente à partir de l'utilisation de l'antibiotique (pression d'antibiotique). Ainsi l'antibiotique ne crée pas la résistance à l'échelle de la population bactérienne, il ne fait que sélectionner un mécanisme de résistance (38).

##### 2-2-1- La résistance chromosomique

Il s'agit d'une mutation du chromosome bactérien sur un locus contrôlant la sensibilité à un antibiotique, c'est un événement spontané c'est-à-dire non provoqué directement par la

présence de l'antibiotique, spécifique, et indépendant n'entraînant que la résistance à un antibiotique ou à une famille d'antibiotiques(9).

### **2-2-2- La résistance extra-chromosomique (plasmidique) :**

Elle est liée à l'introduction dans la bactérie d'un élément génétique non chromosomique formée de fragments d'ADN intra-cytoplasmique et appelé « plasmide de résistance » ou « plasmide R ».

Les « plasmides R » peuvent être transmis par divers mécanismes :

1. Par transduction : l'ADN du plasmide est inclus dans un bactériophage et ensuite transmis par celui-ci après lyse bactérienne à une autre bactérie.
2. Par transformation : l'ADN libre passe d'une cellule à l'autre et va altérer le génotype de la cellule réceptrice.
3. Par conjugaison : elle s'effectue par passage des plasmides à travers des tubules protéiques provenant de l'extension des pilis d'une bactérie vers l'autre (pili sexuel).
4. Par translocation : il se produit un échange de courtes séquences d'ADN (transposons) entre deux plasmides, ou entre un plasmide et une portion d'un chromosome bactérien situé à l'intérieur d'une cellule bactérienne. Un transposon peut transmettre une résistance unique ou multiple (2, 9).

## **3. Résistance aux bêta-lactamines :**

Les entérobactéries ont la capacité de produire des bêta-lactamases, enzymes qui inactivent les bêta-lactamines par ouverture du cycle beta lactame. Ce mécanisme fait partie des mécanismes classiques de résistance bactérienne, tel que l'imperméabilité membranaire et la modification de la molécule cible sur laquelle se fixe l'antibiotique (2).

### **3.1 Définition des bêta-lactamases à spectre élargies (BLSE)**

Les BLSE sont des enzymes à sérine qui agissent par un mécanisme fondé sur l'attaque du groupement hydroxyle porté par une sérine au fond du site catalytique. Ces enzymes confèrent aux entérobactéries des résistances à la plupart des bêta lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapenems(38).

### **3.2 Mécanisme de résistance aux bêta-lactamines**

#### **1. Modification de l'affinité de la cible :**

Un des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines est la modification des protéines cible liants la pénicillines ( PLP) : ceci peut avoir lieu par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour des nouveaux PLP dont l'affinité est différente aux bêta-lactamines (36).

## 2. Mécanisme d'imperméabilité :

Pour atteindre leur cible à la surface de la membrane cytoplasmique, les Beta-lactamines doivent diffuser à travers des canaux spécialisés appelés porines. La diffusion est en fonction de la charge, de la masse moléculaire et de la polarité des molécules. Les Bêta-lactamines touchées, diffèrent selon la porine disparu, ce qui provoque l'augmentation des CMI de certaines B-lactamines (32).

## 3. Mécanisme d'efflux ou de refoulement.

Ce mécanisme est dû à un seul gène ou un opéron codant pour une pompe d'efflux ces pompes sont habituellement utilisées par la bactérie pour ses échanges avec le milieu extérieur, mais expliquent l'ensemble des résistances naturelles de certaines bactéries en particulier vis-à-vis de certaines familles d'antibiotiques qui ne sont pas dégradé au niveau intracellulaire(26).

## 4. Mécanisme enzymatique :

C'est le mécanisme le plus répandu dans la résistance aux Bêta-lactamines. Ces enzymes inactivent les bêta lactamines en hydrolysant l'anneau bêta lactame de l'antibiotique (35).

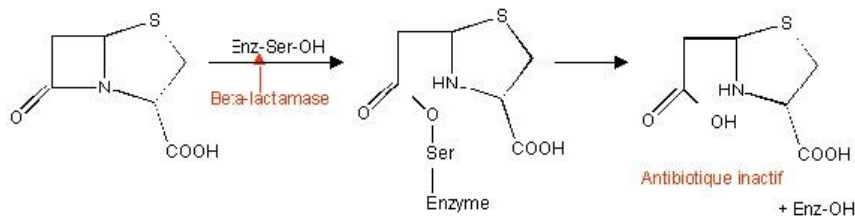


Figure 3 : réaction d'hydrolyse du noyau bêta-lactame par une bêta-lactamase

Tableau 8 : Mécanismes de résistance acquise des bactéries aux  $\beta$ - lactamines

Mécanismes	Bactéries à gram Positif	Bactéries à gram négatif
Production d'une $\beta$ -lactamase	+	+++
Imperméabilité de la paroi	-	++
Modification des PLP	+++	+

NB : La résistance par production de bêta-lactamases peut être naturelle ou acquise.

## V. PORTAGE INTESTINAL DES BETA-LACTAMASES A SPECTRE ELARGI :

### 1. Epidémiologie

La majorité des BLSE dérive des enzymes TEM ou SHV. Il existe maintenant plus de 90 bêta-lactamases de type TEM et plus de 25 bêta-lactamases de type SHV. TEM et SHV sont le plus souvent retrouvés chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, d'ailleurs la 1<sup>ère</sup> bêta-lactamase (TEM-1) a été décrite chez *E. Coli* à partir d'une hémoculture d'un patient qui s'appelait TEMONIERA en Grèce, d'où la désignation TEM, mais ceci n'exclut pas le fait qu'on les retrouve aussi chez *Proteus*, *Providencia* et d'autres genres de la famille des *Enterobactériaceae*. Si les plus classiques des BLSE appartiennent aux familles TEM et SHV il en existe aujourd'hui de nouvelles très différentes sur le plan génétique notamment les CTX-M(39).

### 2. Prévalence

#### 2.1 Prévalence des ESBLE avant 2004, en France :

- En communautaire, (2000) 0,5 % des entérobactéries(20)
- En communautaire: (2003) 1,9 % des entérobactéries(3)
- A l'admission en réanimation: 0,45 % de porteurs(37)

#### 2.2 Prévalence des ESBLE après 2004 :

Augmentation des cas en communautaire :

- En Europe entre 2001 et 2004 (27)

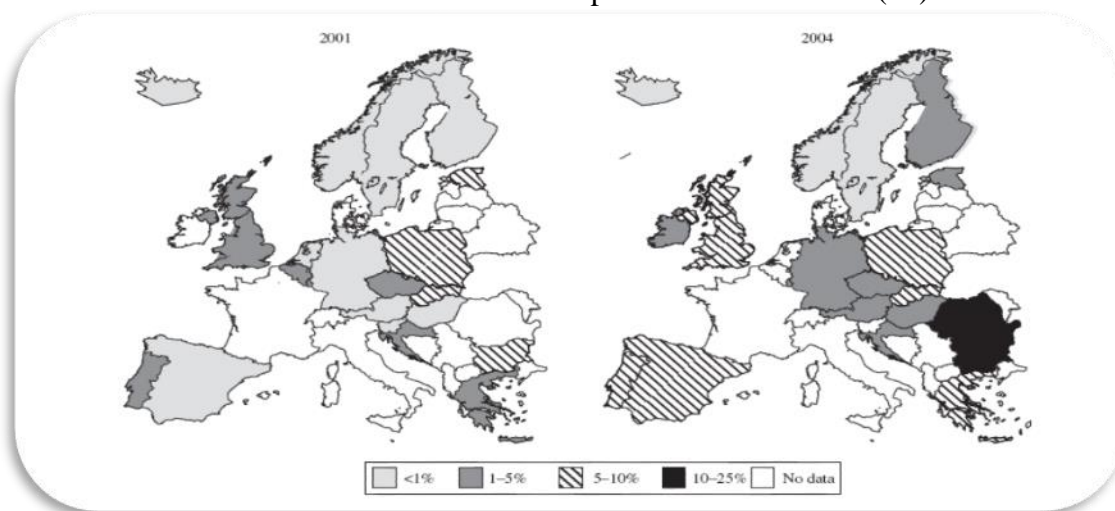


Figure 4 : Prévalence des EBLSE en Europe entre 2001 et 2004

- Dans le monde depuis 1999 – 2000
  - 2,1% en 2001 à 7,5% en 2002 (30)
  - 13,7% (bactériémies), 10,8% (portage) de prévalence (6)

## Une étude a été réalisée en 2010 sur les selles de 860 patients en France : (21)

- 426 patients sains
  - 56 (13,5%) porteurs d'EBLSE
  - 92% *Escherichia coli*
- 272 patients hospitalisés
  - 71 (26,1%) porteurs d'EBLSE
  - 85% *Escherichia coli*
- 162 patients non hospitalisés (En consultation)
  - 25 (15,4%) porteurs d'EBLSE
  - 92% *Escherichia coli*

### 3. Distribution des EBLSE selon l'espèce

(Données AP-HP 1995-2005)

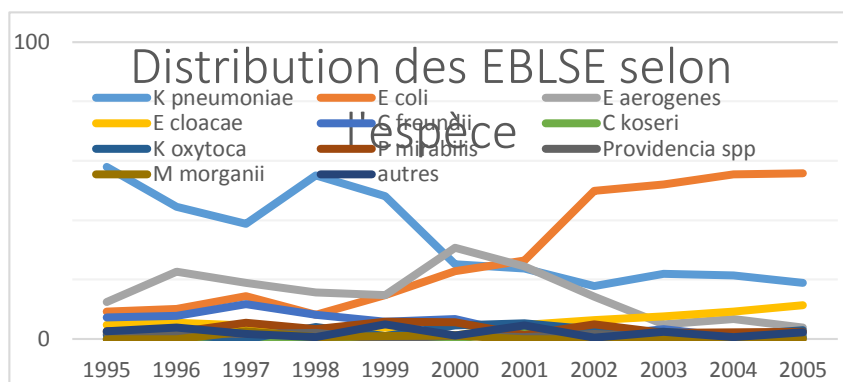


Figure 12 : Distribution des EBLSE selon l'espèce

## Partie II : Matériel & méthodes

### I. Prélèvements

Le prélèvement des selles est réalisé par des individus volontaires au niveau des villes de Casablanca et de Settat, dans des pots stériles de coprologie, qui sont aussitôt transportés au laboratoire, dans des glacières à 4°C.

### II. Primo-culture

Suite à la réception du prélèvement, une noisette de selle est récupérée et mise en suspension dans un tube contenant 1ml du milieu BHI (Annexe 4) .Après agitation au vortex, ces tubes sont incubés à 37°C pendant 24h, puis, conservés à -22°C jusqu'à la prochaine étape.

### III. Culture et isolement

La gélose MacConkey (Annexe 4) additionnée de CTX, a étéensemencée à partir des tubes de la primo-culture par stries serrés, puis incubée à 37°C pendant 24h.

### IV. Caractérisation des germes

#### 1. Examen macroscopique

Après 24h d'incubation, les isolats sont sélectionnés pour cette étude sur la base de l'aspect macroscopique des colonies sur le milieu MacConkey additionné de CTX. Nous avons sélectionné les colonies lisses, brillantes, et de structure homogène, avec un virage de couleur de la gélose Macconkey en rose vif, témoignant de la fermentation du lactose.

#### 2. Examen microscopique : Coloration de Gram

##### ➤ Principe

C'est une double coloration qui permet de connaître la forme et l'arrangement des cellules, la pureté de la culture ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-), alors que celles qui n'en possèdent pas vont retenir le colorant (Gram+).

La consistance et la valeur de la coloration de Gram correspond à des différences biochimiques entre la paroi des bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif.

##### ➤ Réalisation du frottis

Une goutte d'eau distillée stérile est déposée sur une lame en verre. Une colonie isolée est ajoutée à l'anse stérile, étalée à la surface de la lame puis fixée à la chaleur à côté d'un bec benzène.



### ➤ Réalisation de la coloration

- Coloration par le cristal violet (30 secondes à 1 minute). Puis Rinçage à l'eau courante.
- Mordantage au Lugol (30 secondes à 1 minute); Rinçage à l'eau.
- Décoloration (rapide) à l'alcool 95 °C (10 à 20 secondes). Rincer sous un filet d'eau.
- Recoloration à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Puis lavage à l'eau. Séchage de la lame.

Enfin, observation au microscope optique avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000). Cette étape est effectuée pour nous assurer qu'on est en présence de Bacilles à gram négatif.

## V. Identification biochimique des isolats

L'identification des isolats sélectionnés a été faite par des galeries Api 20E.

### ➤ Principe

La galerie Api 20E comporte 20 puits (micro tubes) contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

### ➤ Techniques

- Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

- Inoculation de la galerie :

Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne. Remplir uniquement les tubes des autres tests. Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine. Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

- Détermination de l'espèce bactérienne :

Cette détermination est faite en faisant appel à un catalogue Api 20 E



Figure 5 : Api20E

## VI. Etude de la sensibilité aux Antibiotiques

Les souches isolées sont soumises à une identification des profils de résistance grâce à un antibiogramme par méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en mesurant leurs diamètres d'inhibition.

### ➤ Principe

L'antibiogramme consiste à utiliser différents disques imprégnés d'antibiotiques (Oxoid) que nous avons déposés sur une gélose Mueller-Hinton (Annexe 4) ensemencée par la bactérie à étudier. Après 18 à 24h d'incubation à 37°C, la zone d'inhibition de croissance bactérienne est mesurée à l'aide d'une règle, et les diamètres d'inhibitions sont traduits en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM, 2013.

### ➤ Préparation de l'inoculum

Nous avons prélevé une colonie d'une bactérie que nous avons transvasée dans un tube contenant 3 ml d'eau physiologique stérile. Nous avons ajusté la densité de l'inoculum à celle de l'étalon, c'est-à-dire, à 0,5 Mac Farland en y ajoutant soit un fragment de colonie soit de l'eau physiologique.

### ➤ Ensemencement des boîtes :

Nous avons trempé un écouvillon stérile sec dans l'inoculum et éliminé l'excès par essorage, puis nous avons ensemencé par stries toute la surface de la boîte à gélose Mueller-Hinton (Annexe 1). Enfin nous avons laissé sécher la boîte pendant quelques minutes à température ambiante avec le couvercle fermé.

Le choix des ATB est fait selon leur classification :  $\beta$ -lactamines, aminosides, quinolones, macrolides... Permettant ainsi l'interprétation de l'antibiogramme. 18 antibiotiques ont été testés.

L'antibiotique AMC, formé de l'Amoxicilline combiné à l'Acide Clavulanique qui est un inhibiteur des  $\beta$ -lactamases, est placé entre deux C3G (Céfotaxime « CTX », Ceftazidime « CAZ »), une C4G, (Cefepime « FEP »), un Monobactame (Azetronam « ATM ») pour visualiser une éventuelle présence de synergie entre l'AMC, la CTX, la CAZ, la FEP, dite en bouchon de champagne. Un Carbapénème, un Ertapénème « ETP », et un Fluoroquinolone (Ciprofloxacine « CIP »). La disposition des disques d'ATB est faite à l'aide d'une pince stérile.

➤ **Lecture**

Après une incubation de 18-24h à 37°C en atmosphère ambiante, nous avons mesuré le diamètre de chaque zone d'inhibition en millimètre. Les résultats sont interprétés en fonction des diamètres critiques figurant dans des tableaux d'interprétation fournis par le fabricant de disque.

## VII. Test de synergie

Après avoir obtenu une résistance aux C3G sans image de synergie avec l'AMC, on procède à un test de synergie qui consiste à placer les disques d'antibiotique contenant l'AMC, CAZ et CTX à des distances de 1.5 , 2 , 2.5 et 3cm. On peut conclure en la présence d'une BLSE si on obtient une synergie entre ces antibiotiques qui se traduit par l'apparition d'un bouchon de champagne.

## Partie III : Résultats & Discussion

### I. Résultats

#### 1. Répartition des EBLSE selon la région d'étude

Pendant la période de notre étude qui a débuté du 7 avril et qui s'est étendue jusqu'au 31 mai.

Tableau 9 : Répartition des EBLSE à Casablanca et à Settat

	Settat	Casablanca	Total
Effectif	30	30	60
Positif	5	4	9
Négatif	25	26	51
Répartition	16.67%	13%	15%

#### 2. Répartition des échantillons selon la région et le sexe

La répartition des échantillons n'est pas identique chez les deux sexes : les prélèvements chez les femmes est plus important, elles dominent avec 38 prélèvements (63.3%) (Dont 17 de Casablanca, et 21 de Settat) contre 22 (36%) prélèvements chez les hommes (Dont 13 de Casablanca et 9 de Settat).

Sur les neuf échantillons positifs au BLSE, trois (33.3%) appartiennent à des hommes et six (66.6%) appartiennent à des femmes dont la répartition selon les deux régions est la suivante : 44.4% sont originaire de Casablanca et 55.55% de Settat.

Tableau 10 : Répartition des échantillons selon la région et le sexe

	<b>Hommes (22)</b>		<b>Femmes (38)</b>	
	Nombre : 13		Nombre : 17	
<b>Casablanca</b>	Positif	2 (22.22%)	Positif	2(22.22%)
	Négatif	11	Négatif	15
	Sexe ratio M/F = 0.76			
<b>Settat</b>	Nombre : 9		Nombre : 21	
	Positif	1(11.11%)	Positif	4(44.44%)
	Négatif	8	Négatif	17
Sexe ratio M/F = 0.42				
<b>Sexe ratio M/F Total</b>	0.57			

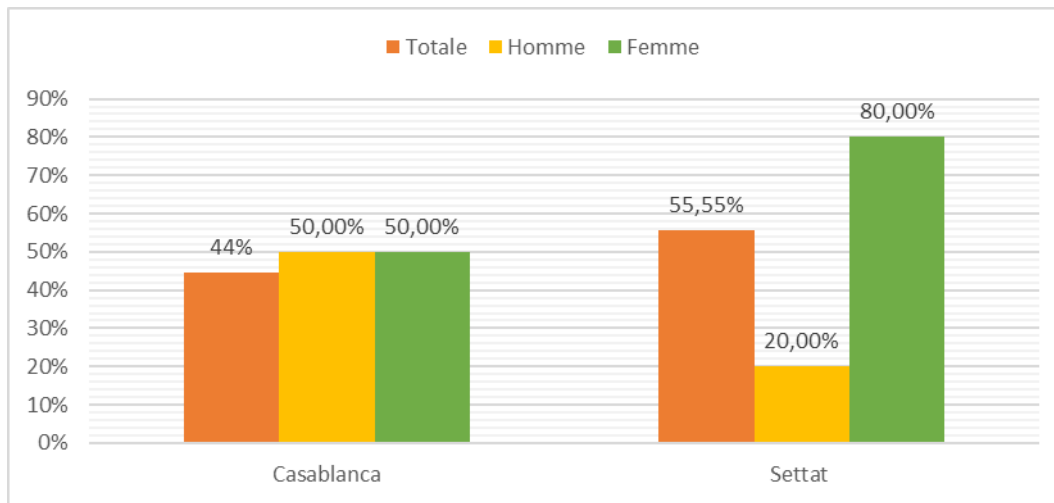


Figure 6 : Pourcentage des EBLSE selon la région et le sexe

1

### 3. Répartition des EBLSE selon le sexe et les tranches d'âge

Dans l'ensemble des échantillons étudiés, nous avons noté une répartition importante des EBLSE chez des filles âgées entre 4 et 14 ans avec une valeur élevée de 50% et chez les enfants de moins de 4 ans de sexe masculin avec une valeur de 33.33%. (Il faut prendre en compte que ces valeurs sont élevées à cause du nombre insuffisant de l'effectif.)

Tableau 11 : Répartition du portage intestinal d'EBLSE selon le sexe et l'âge

Tranche d'âge	Eff. H	Proportion	Positif H	Répartition des EBLSE	Eff.F	Proportion	Positif.F	Répartition des EBLSE	Eff .T
<4 ans	3	14.28 %	1	33.33%	3	7.89%	0	0%	6
4-14 ans	5	23.8 %	0	0 %	4	10.52%	2	50%	9
15-50 ans	11	52.38 %	2	18.18%	24	63.15%	3	8.3%	35
> 50ans	3	14.28%	0	0	7	18.42%	1	14%	10
Total	21	100%	3	14.28 %	38	100%	6	15.78%	60

H : sexe masculin /F : sexe féminin/ T : total

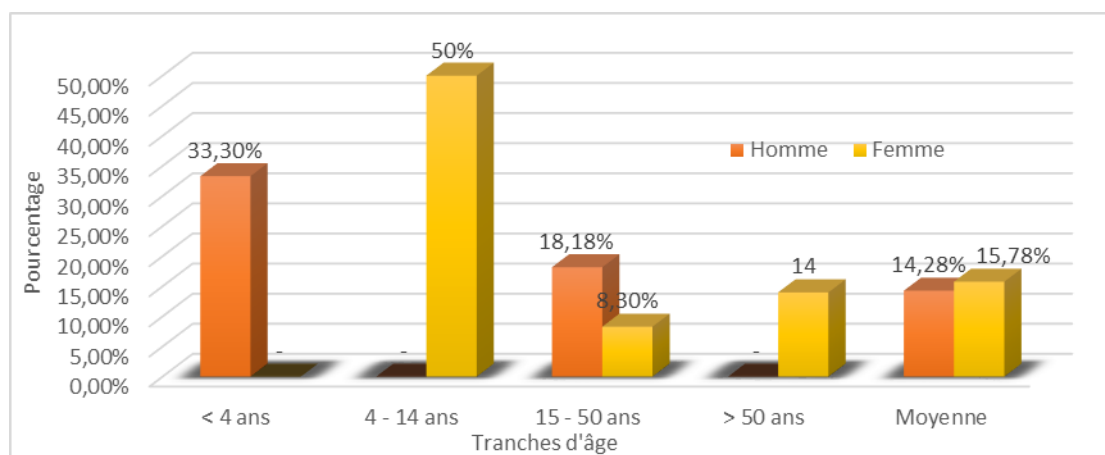


Figure 7 : Répartition selon le sexe et la tranche d'âge

#### 4. Répartition des EBLSE selon les espèces :

La répartition des EBLSE selon les espèces est dominée par la bactérie *Escherichia coli* qui représente à elle seule 88.8% des EBLSE (figure 8) suivie par *Klebsiella oxytoca* avec 11.1%.

Tableau 12 : Répartition des EBLSE selon les espèces.

	Casablanca	Settat	Total
<i>Escherichia. Coli</i>	4(100%)	4(80%)	8 (88.8%)
<i>Klebsiella. Oxytoca</i>	0(0%)	1(20%)	1(11.1%)

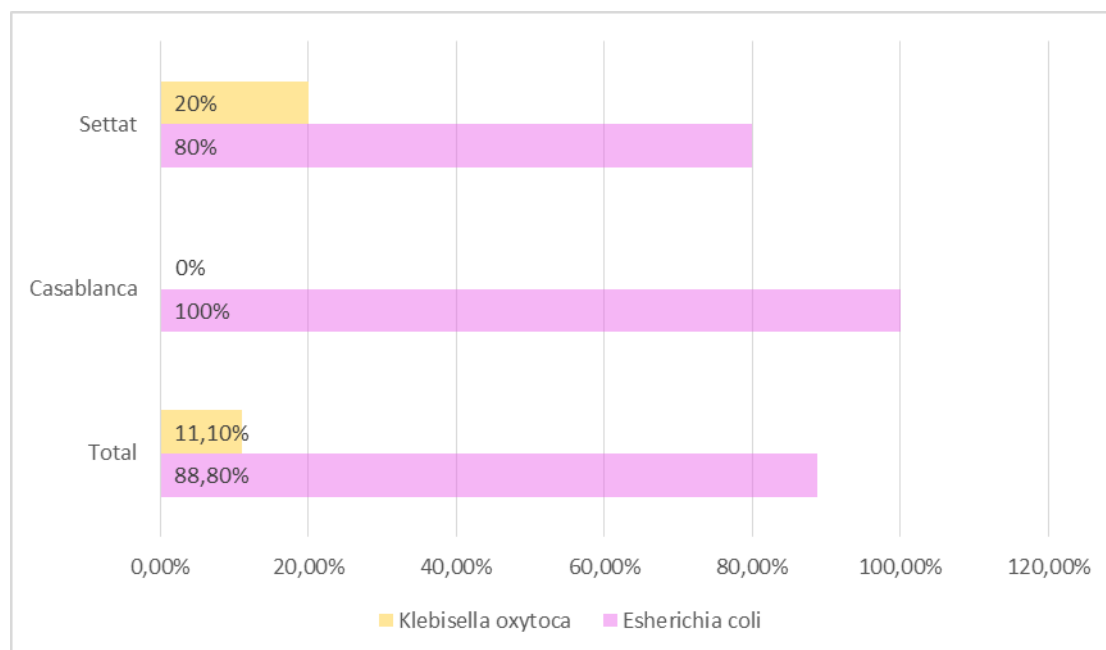


Figure 8 : Répartition des espèces d'entérobactéries productrice de BLSE

#### 5. Répartition des EBLSE selon l'antibiothérapie

Parmi les 9 individus porteurs d'EBLSE, 6 sont sous prise d'antibiotiques, soit un pourcentage de 66.6% d'antibiothérapie.

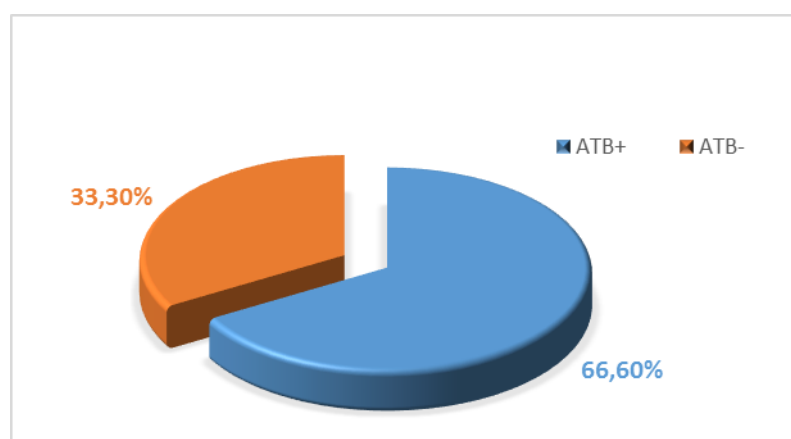


Figure 9 : Pourcentage des individus porteurs d'EBLSE sous Antibiothérapie.

## 6. Résistance des souches aux antibiotiques :

La plupart des souches étudiées ont exprimé une résistance importante aux  $\beta$ -lactamines notamment l'Amoxicilline associée à l'Acide Clavulanique «AMC», et au Céfotaxime «CTX», alors que la totalité de ces souches sont sensible au Céfépime «FEP» et à l'Ertapénème «ETP».

Notons que les souches provenant de Settat sont plus résistantes aux antibiotiques (33% de résistance à l'AMC, 55% au CTX) que ceux de Casablanca (22% de résistance à l'AMC et 45% au CTX).

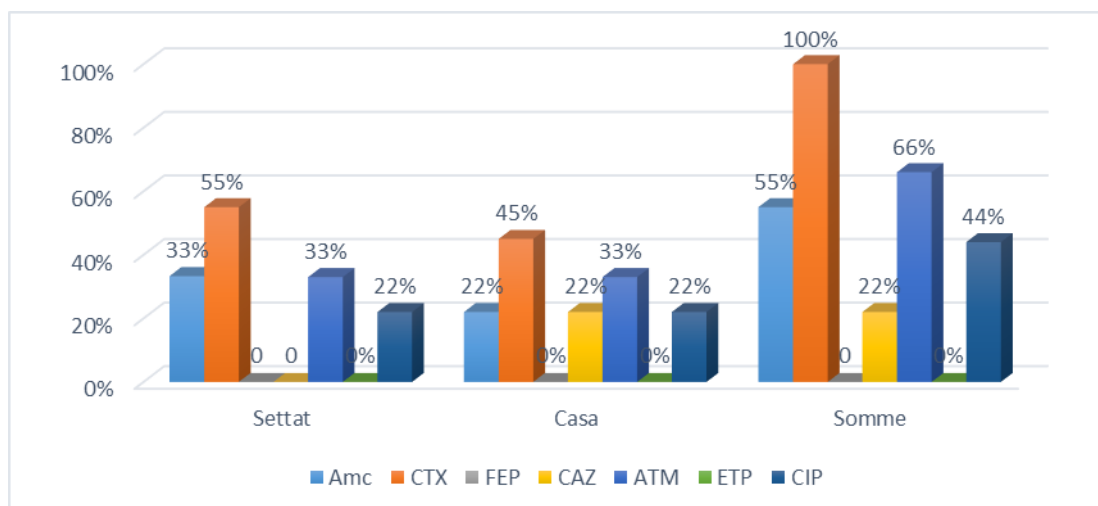


Figure 10 : Pourcentage de résistance des souches aux ATB

## 7. Test de synergie

Les 9 souches ont été comparées par un test de synergie et nous avons noté l'apparition de bouchons en champagne pour chacun des profils étudiés avec au moins l'un des deux C3G (CTX, CAZ).

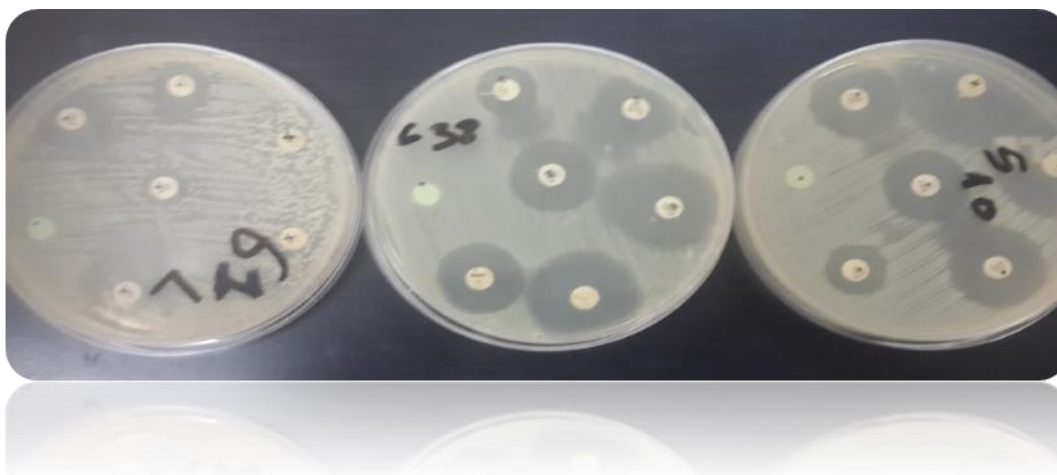


Figure 11 : Synergie entre les C3G et l'acide Clavulanique

## II. Discussion

En ce qui concerne le profil du portage intestinal des EBLSE, nous avons obtenu une répartition de :

- 15% sur un total de 60 prélèvements (Répartition globale)
- 16.67% par rapport à 30 prélèvements provenant de Settat (Répartition à Settat)
- 13 % sur un total de 30 prélèvements de Casablanca (Répartition à Casablanca)

Nous remarquons qu'il existe une prédominance chez le sexe féminin, surtout chez des filles entre 4 et 14 ans et chez les garçons de moins de 4 ans et. Cette tranche d'âge et caractérisée par une grande sensibilité vis-à-vis des infections bactériennes. En effet, une grande partie de ces enfants sont sous antibiothérapie, cela suggère l'implication de la pression d'antibiotique dans la sélection des souches mutées (résistante).

Ces résultats concordent avec ceux d'études, similaires réalisées simultanément au sein de l'IPM (répartition globale 16.67 % et 15.7 % (non-publiés)) , et d'autres déjà publiées 13.5%(21). Et 16% (24).

Pour la résistance aux antibiotiques des EBLSE, nous avons noté une résistance de 22% pour la Céfotaxime « CAZ », et de 100% au Céfotaxime « CTX », ce taux dépasse largement celui de l'étude tunisienne (4%)(17), et marocaine 12%(4).

En ce qui concerne l'Amoxicilline associée à l'Acide Clavulanique « AMC » nous avons trouvé une résistance à 55%, ce qui est identique au résultat d'une étude menée au niveau des hôpitaux marocains (4).

L'absence de résistance à la Céfépime « FEP » et à l'Ertapénème « ETP », nous laisse suggérer que ces molécules restent encore un traitement de choix contre ces bactéries.

Nous avons trouvé un taux de résistance à la Ciprofloxacine de 44%, ce qui dépasse largement celles rapportées par d'autres études marocaine(4), tunisienne(17)et française(25)avec des taux de résistance à la Ciprofloxacine, respectivement, de 12%,14% et 12% .



Par ailleurs il faut retenir que les médicaments comme l'amoxicilline, et la Ciprofloxacine représentent les antibiotiques de première ligne couramment utilisés par les patients sans prescription médicale. Comme les options de traitement disponibles sont limitées, les politiques de contrôle aux antibiotiques, ainsi que la mise en œuvre de mesures de contrôle des infections, reste donc d'une grande importance.

Les Fluoroquinolones sont des antibiotiques puissants et ont été les plus communément prescrits pour les infections urinaires acquises dans la communauté. Une relation entre l'augmentation des prescriptions des quinolones et une augmentation de la résistance Bactérienne a été signalée dans plusieurs pays (28, 40).

## Conclusion & perspectives

Notre étude confirme la présence d'entérobactéries résistantes aux C3G, en milieu communautaire avec une répartition de 13.33% à Casablanca et de 16.67% à Settat, Soit une moyenne de 15%, avec une prédominance féminine et chez les enfants de moins de 14 ans. Et puisque les entérobactéries font partie de la flore commensale, leur acquisition des mécanismes de résistance constitue un réel problème de la santé publique. En effet le pourcentage de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans notre étude est très élevé pour la famille des bêtalactamines (100% au Céfotaxime « CTX », 66% à l'Aztréonam « ATM », 55% à l'Amoxicilline associé à l'Acide Clavulanique « AMC », et 22% au Ceftazidime « CAZ », suivie par une résistance aux Fluoroquinolones (44% au Ciprofloxacin), ce qui affiche un problème au niveau régional.

Retenons que le taux de résistance, des souches isolées à Settat, est plus élevé (33% de résistance à l'AMC, et 55% au CTX) que celles de Casablanca (une résistance de 22% à l'AMC et 45% au CTX).

Ces résistances acquises sont la conséquence de la pression de sélection due au large usage des antibiotiques (66% des porteurs d'EBLSE sont sous antibiothérapie) et de leur déterminisme génétique doté d'un grand pouvoir de dissémination.

L'apparition de différents mécanismes de résistances à cette classe thérapeutique peuvent expliquer son importance. Ces modifications doivent nous inciter à utiliser les antibiotiques de façon raisonnée et d'adopter de nouvelles stratégies pour limiter la dissémination des EBLSE, tel que l'inactivation des résidus d'antibiotiques qui exercent une pression de sélection sur les bactéries, tout au long du tube digestif, et particulièrement au niveau du côlon qui contient la population bactérienne la plus importante. La surveillance des EBLSE paraît être primordiale pour l'avenir.

Nous souhaitons élargir notre étude par une grande population de personnes, avec plus de détails, concernant les renseignements cliniques, pour mieux caractériser les souches bactériennes portées dans l'intestin.

## Références Bibliographiques

1. **Adam, F., and I. Drouillard.** 2003. sulfamides et associations. *Encycl Med Chir, Maladies infectueuses*:268 - 293.
2. **Alekshun, M. N., and S. B. Levy.** 2007. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell* **128**:1037-1050.
3. **Arpin, C., V. Dubois, L. Coulange, C. Andre, I. Fischer, P. Noury, F. Grobost, J. P. Brochet, J. Jullin, B. Dutilh, G. Larribet, I. Lagrange, and C. Quentin.** 2003. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community and private health care centers. *Antimicrob Agents Chemother* **47**:3506-3514.
4. **Arsalane, L., A. Qamouss, M. Chafik, M. Boughalem, and L. Louzi.** 2010. Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009 *Les technologies De Laboratoire* **5**.
5. **Bayles, K. W.** 2000. the bactericidal action of penicillin : new clues to an unsolved mystery. *Microbiol Esp*:8:274-278.
6. **Ben-Ami, R., M. J. Schwaber, S. Navon-Venezia, D. Schwartz, M. Giladi, I. Chmelnitsky, A. Leavitt, and Y. Carmeli.** 2006. Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae into the hospital. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **42**:925-934.
7. **Bentley, R., and J. W. Bennett.** 2003. What Is an Antibiotic? Revisited, p. 303-331, *Advances in Applied Microbiology*, vol. Volume 52. Academic Press.
8. **Bergogne-Berezin, E.** 2001. [Antibacterial antibiotics. Classification, principles and rules of use]. *Rev Prat* **51**:903-909.
9. **Bergogne-Bérézin, E., and P. Dellamonica.** 1999. *Antibiothérapie en pratique clinique*. Masson.
10. **Bossert, I., and L. Young.** 1986. 83 Anaerobic oxidation of paracresol by a denitrifying bacterium. *Appl Environ Microbiol*:1117-1122.

11. **Brenner, D. J.** 1999. Introduction to the family Enterobacteriaceae the Prokaryotes Springer-Verlag K.G:1105-1127.
12. **Carbon, C., B. Regnier, G. Saimot, J. Vilde, and P. Yeni.** 1994. médicaments anti-inféctueux. édition flammarion.
13. **Carbonnelle, B.** 1987. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Simep.
14. **Cavallo, J., and A. Mérens.** 2008. Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique. Pathologie Biologie **56**:300-304.
15. **Cavallo, J. D., R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp, and E. Garrabé.** 2004. Bêtalactamines. EMC - Maladies Infectieuses **1**:129-202.
16. **Courvalain, P., R. Leclercq, and É. Bingen.** 2006. Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymixines. AntibioGramme:349-364.
17. **Elhani, D., I. Elhani, and M. Aouni.** 2012. Resistance in Gram negative bacteria : What is the current situation ? . La tunisie Medicale **90**:680 - 685.
18. **Fattorusso, V., and O. Ritter.** 2006. Vademecum clinique: du diagnostic au traitement. Masson.
19. **Garnier, B., and V. Jarlier.** 1996. Bêta-lactamines et bacilles à gram négatif. Feuillet de biologie:13-20.
20. **Goldstein, F. W.** 2000. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. Multicentre Study Group. Eur J Clin Microbiol Infect Dis **19**:112-117.
21. **Guillet, M., E. Bille, H. Lecuyer, F. Taieb, V. Masse, F. Lanternier, N. Lage-Ryke, A. Talbi, N. Degand, O. Lortholary, X. Nassif, and J. R. Zahar.** 2010. Épidémiologie des patients porteurs d'entérobactéries sécrétrices de bêtalactamase à spectre élargi (EBLSE), à l'admission. Médecine et Maladies Infectieuses **40**:632-636.
22. **Jehl, F., P. Thévenot, M. Chomarat, M. Weber, and A. Gérard.** 2003. De l'antibiogramme à la prescription, vol. 33. Editions BioMérieux.
23. **Leclercq, R., P. Courvalain, and É. Bingen.** 2006. Macrolodies-Incosamides-streptogramines. AntibioGramme:299-324.

24. **Lemaître, N., C. Loïez, N. Pastourel, B. Grandbastien, N. Loukili, R. Dessein, and R. Courcol.** 2012. Dépistage du portage digestif des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu par ensemencement direct des écouvillons rectaux à l'aide de la méthode Mastdiscs™ ID AmpC BLSE. *Pathologie Biologie* **60**:41-44.
25. **Lemort, M., S. Neuville, M. Medus, P. Gueudet, M. Saada, H. Aumaître, and E. Lecaillon.** 2006. Évolution comparée de la sensibilité de souches de *Escherichia coli* isolées d'infections urinaires de patients consultant aux urgences et de patients hospitalisés en 2002 et 2004 à l'hôpital de Perpignan. *Pathologie Biologie* **54**:427-430.
26. **Li, X., and H. Nikaido.** 2004. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs* **64**:159-204.
27. **Livermore, D. M., R. Canton, M. Gniadkowski, P. Nordmann, G. M. Rossolini, G. Arlet, J. Ayala, T. M. Coque, I. Kern-Zdanowicz, F. Luzzaro, L. Poirel, and N. Woodford.** 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* **59**:165-174.
28. **Lonchel, C. M., C. Meex, J. Gangoue-Pieboji, R. Boreux, M. C. Assoumou, P. Melin, and P. De Mol.** 2012. Proportion of extended-spectrum ss-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community setting in Ngaoundere, Cameroon. *BMC infectious diseases* **12**:53.
29. **Minor, L. L., and M. Véron.** 1989. *Bactériologie médicale*. Sciences Flammarion.
30. **Mirelis, B., and F. Navarro.** 2003. Community Transmission of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase. *Emerg Inf Dis*:9 : 1024.
31. **Pilet, C.** 1979. *Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne*. Doin, Paris.
32. **Pitout, J. D., C. C. Sanders, and W. E. Sanders, Jr;.** 1997. Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli. *Am J Med* **103**:51-59.
33. **Rolison, G.** 1998. Forty of beta-lactam research. *Antimicrob Agents Chemother*:589-603.

34. **Sabine, R. D.** 1995. Principales familles d'agents chimiothérapeutiques, antibiotiques, antibiogrammes. *Décaires*:37-53.
35. **Sanders, C. C.** 1992. beta-Lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **14**:1089-1099.
36. **Stahl, J. P.** 2006. Épidémiologie, contrôle et traitements des résistances aux antibiotiques: compte-rendu du 45e congrès ICAAC, Washington 2005. *Médecine et Maladies Infectieuses* **36**:290-296.
37. **Thouverez, M., P. Daniel Talon, and P. Xavier Bertrand.** 2004. Control of Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamase in Intensive Care Units: Rectal Screening May Not Be Needed in Non-Epidemic Situations • *Infection Control and Hospital Epidemiology* **25**:838-841.
38. **Tigaud, S.** 2004. Quoi de neuf en matière de résistance aux antibiotiques. *Biotribune V VI*.
39. **Vodovar, D., G. Marcadé, L. Raskine, I. Malissin, and B. Mégarbane.** 2013. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de Médecine Interne* **34**:687-693.
40. **Zervos, M. J., E. Hershberger, D. P. Nicolau, D. J. Ritchie, L. K. Blackner, E. A. Coyle, A. Hiltz, A. G. Kuyumjian, W. Krebs, P. Hogan, and T. J. Lubowski.** 2003. Relationship between fluoroquinolone use and changes in susceptibility to fluoroquinolones of selected pathogens in 10 United States teaching hospitals, 1991-2000. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **37**:1643-1648.

## Liste des Figures

Figure 1	Cycle Bêta lactame
Figure 2	Structure des différents groupes de Bêta-lactamines
Figure 3	réaction d'hydrolyse du noyau bêta-lactame par une bêta-lactamase
Figure 4	Prévalence des EBLSE en europe entre 2001 et 2004
Figure 5	Api 20 E
Figure 6	Pourcentage des EBLSE selon la région et le sexe
Figure 7	Répartition selon le sexe et la tranche d'âge
Figure 8	Répartition des espèces d'entérobactéries productrice de BLSE
Figure 9	Pourcentage des individus porteurs d'EBLSE sous Antibiothérapie.
Figure 10	Pourcentage des résistances des souches aux ATB
Figure 11	Synergie entre les C3G et l'acide Clavulanique
Figure 12	Distribution des EBLSE selon l'espèce

## Liste des tableaux

Tableau 1	Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquents en clinique humaine
Tableaux (2, 3, 4, 5, 6)	Classification des antibiotiques
Tableau 7	Classification des Beta lactamines
Tableau 8	Mécanismes de résistance acquise des bactéries aux $\beta$ - lactamines
Tableau 9	Répartition des EBLSE à Casablanca et à Settat
Tableau 10	Répartition des échantillons selon la région et le sexe
Tableau 11	Répartition du portage intestinal d'EBLSE selon le sexe et l'âge
Tableau 12	Répartition des EBLSE selon les espèces.

## Annexe 1

**Tableau 1 : Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquents en clinique humaine(31)**

	Genre		Espèces
GROUPE I	<i>EDWARDSIELLEAE</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>SALMONNELLEAE</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
GROUPE II	<i>ESCHERICHIEAE</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>LEVINEAE</i>	<i>Levinea</i>	
GROUPE III	<i>KLEBSIELLEAE</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
GROUPE IV	<i>PROTEAE</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE V	<i>YERSINIEAE</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>



## Annexe 2

### Tableaux : Classification des Antibiotiques selon leur mode d'action

*Tableau 2 : antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane :*

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
<b>Fosfomycines (16)</b>	Large	Bactéricide	Inhibition de la pyruvyltransférase
<b>Vancomycine (18)</b>	Etroit	Bactéricide	Fixation sur les 2 derniers acides aminés (D-ala) constituant le précurseur du peptidoglycane
<b>Betalactamines (Cf. chapitre 3)</b>	Selon le groupe	Bactériostatique et Bactéricide	Fixation et inhibition des PLP (Protéines Liant les Pénicillines)

*Tableau 3 : antibiotiques actifs sur les membranes*

	Spectre	Type d'action	Cible
<b>Polymixines</b>	BGN	Bactéricide	Altération de la membrane externe

*Tableau 4 : antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques*

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
<b>Macrolides (23)</b>	Cocci, & BG+	Bactériostatique	Fixation sur la sous-unité 50S
<b>Aminosides (22)</b>	Inactifs sur les anaérobies	Bactéricide	Fixation sur la sous-unité ribosomale 30S
<b>Acide fusidique (16)</b>	Staphylocoques	Bactériostatique à faible & bactéricide à forte dose	Fixation et inhibition des PLP (Protéines Liant les Pénicillines)

*Tableau 5 : antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques*

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
<b>Rifampicines (22)</b>	Staphylocoques & mycobactéries	Bactéricide	Inhibition de l'ARN polymérase
<b>Quinolones (29)</b>	Large	Bactéricide	Blocage de la synthèse de l'ADN

*Tableau 6 : Classification des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates*

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
<b>Sulfamides (1)</b>	Entérobactéries Staphylocoques	Isolément Bactériostatique, En association bactéricide	Les sulfamides inhibent la Dihydroptéroate synthétase

## Annexe 3

**Tableau 7 : Classification des Bêtalactamines(19, 34)**

Pénames (pénicillines)	Depuis que Fleming a observé le pouvoir bactéricide du filtrat brut d'une culture de <i>Penicillium notatum</i> , la molécule de pénicilline a été purifiée et modifiée, et de nombreuses pénicillines naturelles et synthétiques ont été isolées ou élaborées.(33)			
Dérivés de l'acide penicillaniquesulfon e	Les dérivés de l'acide pénicillanique sulfone sont des inhibiteurs de bêta-lactamases. Ils comprennent le sulbactam et le tazobactam.			
Carbapénèmes	Les carbapénèmes sont représentés par l'imipénème, le méropénème et le biapénème. Parmi ces antibiotiques, l'imipénème est actuellement le seul produit d'usage clinique au Maroc. C'est un antibiotique à large spectre, actif sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et il présente une grande stabilité vis-à-vis des BLSE.			
Clavâmes	Parmi les clavâmes, L'acide clavulanique est un puissant inhibiteur de différents types de bêta-lactamases, mais il n'a aucun pouvoir antibactérien. On l'associe avec les pénicillines à large spectre, telle l'amoxicilline pour élargir son spectre d'action			
Céphalosporines	Ce sont tous des <b>produits à large spectre</b> , mais dont l'intérêt réside surtout dans leur <b>activité sur les BGN</b> . Les céphalosporines sont classées en trois catégories, selon l'histoire (Trois "générations"), leur spectre et surtout leur comportement vis à vis des céphalosporinases. On distingue les :			
	C1G tel que :	C2G :	C3G:	Cephamycines :
	- Céfalotine - Céfradine	- Céfamandole - Céfuroxime - Céfotiam	- céfotaxime - céfépime. - céftazidime.	- céfoxitine - céfotétane
Monobactames	Le plus connu est l'aztréonam C'est un antibiotique à spectre très étroit. Il a une bonne stabilité vis-à-vis des bêta-lactamases et n'agit que sur les bactéries à gram négatif.			

## Annexe 4

### Liste des milieux de culture et solutions utilisés :

#### Bouillon cœur-cervelle(BHI) : Milieu d'enrichissement non sélectif

##### Composition :

- protéose-peptone ..... 10g
- infusion de cervelle de veau..... 12g
- infusion de cœur de bœuf..... 5,0g
- glucose..... 2,0g
- chlorure de sodium..... 5,0g
- hydrogénophosphate de sodium..... 2,5g

pH=7

##### Préparation :

37g par litre. Stérilisation classique.

---

#### Gélose Mueller-Hinton

##### Composition:

- infusion de viande de bœuf ..... 300,0 ml
- peptone de caséine..... 17,5 g
- amidon de maïs..... 1,5 g
- agar..... 17,0 g

pH = 7,4

##### Préparation :

38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 38 g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau.il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. IL faut porter à ébullition pendant environ une minute .Ensuite stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 116°C.

---

#### Gélose MacConkey :

c'est: un Milieu sélectif pour l'isolement BGN comme *Salmonella* et *Shigella* ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques.

Ce milieu contient deux inhibiteurs de la flore Gram<sup>+</sup>, les sels biliaires et le cristal violet.

Il a pour composition :

(Formule en g /L d'eau distillée)

<b>Peptone</b>	<b>20</b>
<b>Lactose</b>	<b>10</b>
<b>Sels biliaires</b>	<b>1.5</b>
<b>Cristal violet</b>	<b>0.001</b>
<b>Rouge neutre</b>	<b>0.05</b>
<b>Chlorure de sodium</b>	<b>5</b>
<b>Agar</b>	<b>15</b>
<b>pH = 7,1</b>	