

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE



ANNEE 2019

N° 18

Prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre élargi et/ou résistantes à l'imipénème au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU/FANN de 2015 à 2016

MEMOIRE

**POUR OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDE SPECIALISEE DE
BIOLOGIE CLINIQUE (DES-BC)**

PRESENTE ET SOUTENU PUBLIQUEMENT

LE 30 JANVIER 2019

PAR

Dr Habibou SARR

(Ancien interne des hôpitaux)

MEMBRES DU JURY

Président :	M.	Ahmad Iyane	SOW	Professeur
Membres :	Mlle	Thérèse	DIENG	Maître de Conférences Agrégé
	M.	Mouhamadou Lamine	DIA	Maître de Conférences Agrégé
Directeur :	M.	Mouhamadou Lamine	DIA	Maître de Conférences Agrégé
Co-directeur	M.	Amadou	DIOP	Maitre-Assistant

*Au nom d'Allah, le Tout
Miséricordieux, le Très
Miséricordieux.*

*Paix et Salut sur Son Prophète
Mouhamed.*



DEDICACES

A la mémoire de....

Ma grand-mère feu Codou Salla DIENG, ton image plane encore dans mon esprit, tes conseils me manquent énormément. J'aurai tant voulu que tu sois là pour partager ce moment de joie avec nous. Que le Tout puissant t'accueille dans son paradis céleste. Amin

Je dédie ce travail...

A ma chère maman, Aïssatou NDIAYE dit « Mbéne Ndiaye »,

Adorable maman tu m'as inspiré et m'as donné la force et le courage d'arriver à ce stade.

L'amour, la tendresse, la générosité et le soutien à tous les membres de la famille font de toi la meilleure des mamans.

Tu m'as boosté quand j'avais plus d'énergie, encouragé quand j'étais découragé et réconforté dans les moments les plus difficiles à l'université.

Mon attachement et mon amour envers toi ne peuvent être exprimés ou traduits par ces quelques mots.

Merci de m'avoir toujours donné le souffle de m'être battu et de continuer à me battre pour aller de l'avant.

Merci pour tout...

Enfin...Merci tout simplement d'être ma maman.

Je prie Allah le Tout Puissant de t'accorder santé et longue vie afin que tu puisses célébrer avec toute la famille l'aboutissement de tant de sacrifices et de privation, le fruit de l'arbre que tu as si bien entretenu. Amin !

A mon cher père, *Malick SARR,*

Aucune expression ne saurait démontrer l'amour, la reconnaissance, le respect et l'estime que je porte envers toi.

Ta présence et ta protection m'ont toujours réconforté.

Tu as consenti tant de sacrifices, de patience, de bienveillance, d'investigation et d'encouragement pour ma réussite.

J'espère en ce jour être ta fierté.

Qu'Allah le Tout Puissant te procure santé et longue vie. Amin !

A ma chérie *Bator NDIAYE,*

Ce travail t'est particulièrement dédié, trouves y tout mon amour et ma reconnaissance envers toi. Puisse notre union résister à l'épreuve du temps et Qu'Allah le Tout Puissant veille sur notre union et nous prête longue vie à côté du petit Moustapha Sarr et des autres enfants à venir inchaallah. Je t'aime...

A mon fils *Mouhamadou Moustapha SARR*

Alhamdu lilahi rabbil halamina ! Tu es un cadeau du ciel, en ce jour je réitère tout mon amour et mon affection que je porte pour toi.

J'espère qu'un jour tu suivras les pas de papa ! Papa t'adore

Grandis en sagesse !

A mes frères *Moustapha, Kabir, Lamine, Cheikh Tidiane, Modou, Ahmadou, Baye nabi, Ibrahima....*

A mes sœurs *Ndeye fatou, Anta, Awa, Mariama, Khady, Seynabou, Ramatoulaye, Astou Mbéne...*

Pour tout l'amour, le soutien et le bonheur que vous réveillez en moi,
J'ai toujours apprécié l'affection que vous portez à mon égard,
Que ce travail soit le témoignage de mon amour et ma gratitude envers
vous
Ce travail vous est dédié

A mes oncles et tantes, pour tous les principes que vous m'avez
transmis.

A mes cousins et cousines, pour votre présence constante à mes
côtés.

A tous mes amis avec qui j'ai partagé des moments de peine et de joie
à la fac : **Dame DIA, Abdou DIOUCK, Khadim NDIAYE, Alexis Papis
SAMBOU, Serigne THIAM...** Que nos liens d'amitié perdurent pour
toujours.

**A mes camarades et collègues de l'internat : Abdoulaye DIOP, Dame
GAMBE, Bambo DIAKHABY, Michel Assane NDOUR, Serigne M.
GUEYE, Pape M KANDJI, Serigne M. M. SOW, Abdou DIOP,...**



REMERCIEMENTS

Je remercie du fond du cœur le **Pr Ahmad IYANE SOW** Chef de service du laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'hôpital FANN pour avoir mené ce travail au laboratoire et pour tout le soutien apporté.

Je tiens à remercier le **Pr Mouhamadou Lamine DIA** pour avoir accepté de diriger ce travail malgré ses multiples obligations professionnelles. C'est un honneur pour moi d'avoir été guidé par vos connaissances en microbiologie. Je vous remercie sincèrement du fond du cœur.

Je remercie le **Dr Amadou DIOP** pour avoir accepté de co-diriger ce travail malgré ses multiples tâches. C'est un honneur pour moi de vous avoir côtoyé. Merci pour tous !

Je remercie également le **Pr Roughyatou KA** pour tous ses conseils.

Je tiens également à remercier les Docteurs : **Aissatou Ahmet NIANG, Baidy DIEYE, Fatoumata DIALLO...**

L'occasion m'est également donnée de pouvoir remercier tout le personnel du laboratoire de bactériologie-virologie : **Adama COLY, Major Bineta Gassama, Mme DIA, Mme SAMB, Mme Bass, Mme LY, Mme FALL, Mme KAMARA, Ndaté SEYE, Elisa LOCCA, Mbathio NDIAYE, Abdou DIEME...** Votre bonne humeur de tous les jours m'a permis de réaliser ce travail au laboratoire.

Merci à tous....



A NOS MAITRES ET JUGES

A notre maître et président du jury.

Le Professeur Ahmad Iyane SOW

C'est pour nous une grande fierté de vous avoir comme président du jury.

Votre disponibilité, votre générosité, vos qualités scientifiques et humaines sont connues et reconnues de tous. Trouvez en ces mots l'expression de notre plus grand respect et de notre haute considération.

Soyez assuré de notre admiration cher maître.

Puisse Dieu vous prêter longue vie. Amin !

A notre Maître et Directeur de mémoire.

Le Professeur Mouhamadou Lamine DIA

Vous nous avez encadré et accompagné durant ce travail, votre soutien, vos conseils et encouragements nous ont permis de terminer à bien ce travail.

Votre humilité, votre simplicité, vos qualités scientifiques et humaines ne sont plus à démontrer. Trouvez en ces mots l'expression de notre plus grand respect.

Puisse Dieu vous prêter longue vie. Amin !

A notre Maître et Juge,

Le Professeur Thérèse DIENG

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail.

Durant notre cursus en pharmacie nous avons apprécié votre gentillesse et votre simplicité. Vos qualités scientifiques et humaines sont connues et reconnues par tous les étudiants ayant bénéficié de vos enseignements.

Soyez assuré de notre admiration et de notre profond respect.

Puisse Dieu vous prêter longue vie. Amin !

A notre maitre et Co-directeur de mémoire,

Le Docteur Amadou DIOP

Vous avez accepté de co-diriger ce travail malgré vos multiples obligations professionnelles.

Grâce à votre soutien, votre disponibilité, vos conseils nous avons pu aboutir à l'élaboration de ce document. Votre souci constant du travail méthodique restera pour nous un modèle à suivre.

Soyez assuré de notre sincère et profonde reconnaissance.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABG	: AntibioGramme
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AMC	: Amoxicilline + acide clavulanique
BEL	: Belgium extended-spectrum Bêtalactamase
BES	: Brazilian Extended-Spectrum Bêtalactamase
BGN	: Bacilles à Gram Négatif
BLSE	: Bêtalactamases à Spectre Elargi
C3G	: Céphalosporines de troisième Génération
CA-SFM	: Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ	: Ceftazidime
CHNU	: Centre Hospitalier National Universitaire
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CRO	: Ceftriaxone
CTX	: Cefotaxime
CTX-M	: Céfotaximase –Munich
DA	: Désaminase
EBLSE	: Entérobactéries Productrices de Bêtalactamases à Spectre Elargi
EDTA	: Ethylène Diamine Tétra-Acétique
EPC	: Entérobactérie Productrice de Carbapénèmases
EPEC	: <i>Escherichia coli</i> entéropathogène
ETEC	: <i>Escherichia coli</i> entérotoxinogène
FEP	: Céfépime
GES	: Guyana Extended-Spectrum Bêtalactamase
GIM	: German imipenemase
IAS	: Infections Associées aux Soins
IMP	: Imipenème/imipenem
LPS	: Lipopolysaccharides
Mar	: Multiple Antibiotic Resistance
MBL	: Métallo-Bêtalactamases
MH	: Mueller Hinton
NDM	: New Delhi MBL

OXA	: Oxacillinase
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PER	: <i>Pseudomonas</i> Extended Resistance
PLP	: Protéines Liants les Protéines
Qnr	: Quinolone Resistance
SHV	: Sulfhydryl Variable
SIM	: Sao Paulo metallo- β -lactamase
TDA	: Tryptophane Désaminase
TLA	: Tlahuicas – tribu indienne
TRI	: TEM Résistantes aux Inhibiteurs
USI	: Unités de Soins Intensifs
VEB	: Vietnam Extended-Spectrum Bêtalactamase
VIM	: Verona integrin-encoded MBL
VP	: Voges Proskauer

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme d'hydrolyse d'une bêtalactamine par une bêtalactamase.	9
Figure 2 : Souche productrice de BLSE : image dite en « bouchon de champagne »	22
Figure 3 : Répartition des souches selon le sexe	26
Figure 4 : Répartition des souches selon l'âge	26
Figure 5 : Répartition des souches selon l'année d'étude	27
Figure 6 : Répartition des souches selon l'origine des échantillons	27
Figure 7 : Répartition des souches selon la nature du produit pathologique	28
Figure 8 : Répartition des souches selon l'espèce d'entérobactérie	28
Figure 9 : Répartition des souches selon les phénotypes	29
Figure 10 : Profil de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des aminosides	31
Figure 11 : Profil de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des quinolones	32
Figure 12 : Profil de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des autres antibiotiques	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification des entérobactéries.	5
Tableau II : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries	7
Tableau III : Classification des bêtalactamases.....	10
Tableau IV : Exemples de systèmes d'efflux de bactéries à Gram négatif incluant les bêtalactamines dans leur spectre de substrat	15
Tableau V : Phénotypes de résistance aux quinolones chez <i>E. coli</i>	18
Tableau VI : Liste des antibiotiques testés à l'antibiogramme des entérobactéries	23
Tableau VII : Répartition des BLSE selon l'espèce d'entérobactérie	29
Tableau VIII : Pourcentage de souche productrice de BLSE par espèce d'entérobactérie	30
Tableau IX : Résistance à l'imipénème selon l'espèce d'entérobactérie.....	30

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE	3
1. GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES	4
1.1. Définition.....	4
1.2. Historique	4
1.3. Classification	4
1.4. Habitat	5
2. CARACTERES BACTERIOLOGIQUE DES ENTEROBACTERIES.....	6
2.1. Morphologie	6
2.2. Culture	6
2.3. Biochimie.....	6
2.4. Antigènes	8
2.5. La résistance aux antibiotiques.....	9
2.5.1. Résistance aux bêta-lactamines	9
2.5.2. Résistance aux aminosides	16
2.5.3. Résistance aux quinolones	17
3. POUVOIR PATHOGENE	19
4. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE.....	21
4.1. Examen macroscopique	21
4.2. Examen microscopique.....	21
4.3. Culture	21
4.4. Identification.....	22
4.5. Antibiogramme	22
DEUXIEME PARTIE	24
I. CADRE, TYPE ET PERIODE D'ETUDE	25
1. Cadre d'étude.....	25
2. Type et période d'étude	25
II. MATERIELS ET METHODE.....	25
1. Matériels	25
2. Méthodologie.....	25

III. RESULTATS.....	26
1. Répartition des souches selon le sexe.....	26
2. Répartition des souches selon l'âge.....	26
3. Répartition des souches selon l'année d'étude	27
4. Répartition des souches selon l'origine des échantillons	27
5. Répartition des souches selon la nature du produit pathologique	28
6. Répartition des souches selon l'espèce d'entérobactérie.....	28
7. Répartition des souches selon les phénotypes	29
8. Répartition des BLSE selon l'espèce d'entérobactérie.....	29
9. Pourcentage de souche productrice de BLSE par espèce	30
10. Résistance à l'imipénème selon l'espèce d'entérobactérie.....	30
11. Profil de sensibilité des entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques	31
11.1 . Aminocycliques.....	31
11.2. Quinolones	32
11.3. Autres antibiotiques.....	33
DISCUSSION	34
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	39
PERSPECTIVES.....	42
REFERENCES.....	43

INTRODUCTION

La lutte contre l'acquisition par les bactéries de résistances aux antibiotiques représente un défi majeur pour la médecine du XXI^e siècle. L'augmentation croissante de l'incidence des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (EBLSE), est à l'origine d'infections graves et est à l'origine d'une prescription accrue d'antibiotiques à large spectre. Les bêtalactamases sont des enzymes constitutionnelles ou acquises, produites par les bactéries. Leur activité provoque l'ouverture du cycle beta-lactame et crée un intermédiaire acyl-enzyme instable qui est ensuite dégradé en acide inactif [1].

L'émergence et la dissémination de nouvelles bêtalactamases, premier mécanisme en cause dans la résistance des bactéries à Gram négatif (BGN) aux bêtalactamines, sont concomitantes à l'introduction des bêtalactamines dans l'arsenal thérapeutique. Ainsi, l'introduction des céphalosporines de troisième génération (C3G) en pratique clinique au début des années 1980, permettant de lutter contre les infections à germes producteurs de pénicillinases, a été suivie, dès 1983, de la description de la première bêtalactamase à spectre élargi (BLSE) chez *Klebsiella pneumoniae* en Allemagne [1]. Plus de 200 BLSE ont maintenant été décrites et leur diffusion à travers le monde pose un véritable problème de santé publique [2]. Les BLSE sont des enzymes à large spectre, conférant une résistance à la quasi-totalité des bêtalactamines, excepté les céphamycines (difficiles à utiliser en thérapeutique) et les carbapénèmes. Jusqu'à la fin des années 1990, les entérobactéries productrices de BLSE étaient principalement des espèces dites « hospitalières », *Klebsiella pneumoniae* ou *Enterobacter spp*, et diffusant de façon clonale entre patients hospitalisés. Depuis le début des années 2000, l'émergence et la dissémination explosive de « nouvelles » BLSE (type CTX-M) sont observées au niveau mondial, avec un changement radical de l'épidémiologie. En effet, la diffusion des CTX-M au sein de l'espèce *Escherichia coli* a bouleversé l'épidémiologie classique des BLSE, avec une dissémination de telles souches dans la communauté [3,4].

Le défi majeur est aujourd'hui de limiter la propagation des entérobactéries productrices de BLSE en milieu communautaire et surtout hospitalier, ceci passe par l'identification et la réalisation d'un antibiogramme.

- Notre étude a été réalisée au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU de FANN avec comme objectif général la détermination de la prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre élargi et/ou résistantes à l'imipénème. Les objectifs spécifiques sont :
 - D'identifier les principales EPC (Entérobactérie Productrice de Carbapénémases) isolées au laboratoire,
 - Déterminer la sensibilité des EBLSE vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques (aminosides, quinolones...)



PREMIERE PARTIE

1. Généralités sur les entérobactéries

1.1. Définition [5, 6]

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 avec ou sans production de gaz ;
- ne possèdent pas de cytochrome oxydase ;
- réduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*).

1.2. Historique [7, 8]

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* remonte à 1937 lorsqu’Otto RAHN proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquels on trouvait déjà des noms tels qu’*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* ou *Shigella*. Deux années après cette description qui concernait 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67. Les travaux des équipes de Don Brenner et de Patrick A. D. Grimont ont permis une véritable explosion de cette famille avec un très grand nombre de nouveaux genres et espèces décrits depuis une vingtaine d’années.

En 1972, Edwards et Ewing rapportaient 11 genres et 26 espèces dans la famille des *Enterobacteriaceae*.

En 1973, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. En 1985, Farmer et Coll décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques.

1.3. Classification

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend actuellement 100 espèces répertoriées [13]. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres (**Tableau I**) : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

Tableau I : Classification des entérobactéries.

Groupe	Sous familles	Genres	Espèces
GROUPE I	<i>EDWARDSIELLEAE</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>SALMONELLEAE</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>

1.4. Habitat [9, 10]

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des commensaux ou des saprophytes, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux.

Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif des entérobactéries qui peuvent proliférer en abondance dans l'environnement (sols et eaux) et participer aux grands cycles de dégradation des matières organiques.

2. Caractères bactériologique des entérobactéries

2.1. Morphologie [6, 10, 11, 12]

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique ; bacilles à Gram négatif de 2-3 μm de long sur 0,6 μm 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.

2.2. Culture [9, 10, 11, 13]

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

Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R).

Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes. Les *Proteus* ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme.

En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme du bouillon.

2.3. Biochimie [14].

L'identification des *Enterobacteriaceae* est d'abord basée sur des caractères biochimiques, complétés pour certains genres par la sérotypie. Celle-ci n'a de sens qu'une fois le genre ou l'espèce déterminée car les communautés antigéniques inter-genre et inter-espèce sont nombreuses (**Tableau II**).

Tableau II : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries [14].

	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>C. diversus</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Morganella</i>	<i>P. rettgeri</i>	Providencia	Yersinia
Mobilité	+	+	+	+ /-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+/-
Gaz en glucose	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+/-	+/-	-
Lactose	-	+ /×	+	+ /×	-	+	+ /×	-	-	-	-	-	-	-
Test ONPG	-	+	+	+	+/-	+	+	+	-	-	-	-	-	+
H ₂ S	+ (-)	+ (-)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Uréase	-	- (+)	-	-	-	+/-	-	-	+	+	+	+	-	-/+
Ph.alamine DA et TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Indole	-	-	+	+	+/-	- (+)	-	-	+	-	+	+	+	-
Citrate de Simmons	+ (-)	+	+	-	-	+/-	+	+	+/-	+/-	-	+	+	-
Mannitol	+	+	+	+	+/-	+	+	+	-	-	-	+	+/-	+/-
Saccharose	-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+	+	×	+/-	+/-	+/-	+/-
V.P	-	-	-	-	-	+ (-)	+	+	-	-	-	-	-	-

Légende :

+ = positif en 1 ou 2 jours ; (+) = positif tardivement ; - = négatif ; **DA** = désaminase ; **TDA** = tryptophane désaminase ; **V.P** = Voges Proskauer ;

× = tardivement et irrégulièrement positif (fermentation due à des mutants) ; -(+) = en général négatif – exceptionnellement positif tard.

2.4. Antigènes [15]

La détermination du sérotype est réalisée pour des souches dont l'identification biochimique est certaine. Il existe différents antigènes :

❖ Les antigènes O

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou à l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation.

La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée.

❖ Les antigènes H

Ce sont des antigènes qui ne sont présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermostables et inactivés par l'alcool.

Les réactions d'agglutination se produisent rapidement et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation.

❖ Les antigènes K

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O. Ils sont détruits par une ébullition de 2 heures.

Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99).

❖ L'antigène Kunin

Cet antigène commun chez la famille des *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique.

Des antisérums dirigés spécifiquement contre chacun des antigènes bactériens sont préparés en utilisant les méthodes de l'absorption spécifique des anticorps de Castelcani. Des anticorps qui se sont fixés sur l'antigène bactérien correspondant forment des agglutinats. Après centrifugation, il ne reste plus dans le surnageant que des anticorps qui n'ont pas été en contact avec l'antigène.

2.5. La résistance aux antibiotiques

2.5.1. Résistance aux bêtalactamines

❖ Synthèse d'enzymes inactivatrices : Bêtalactamases à Spectre Elargi (BLSE)

➤ Définition [1]

C'est le mécanisme prédominant de la résistance aux bêtalactamines chez les entérobactéries. Ce sont des enzymes capables d'ouvrir le cycle beta-lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (**Figure 1**).

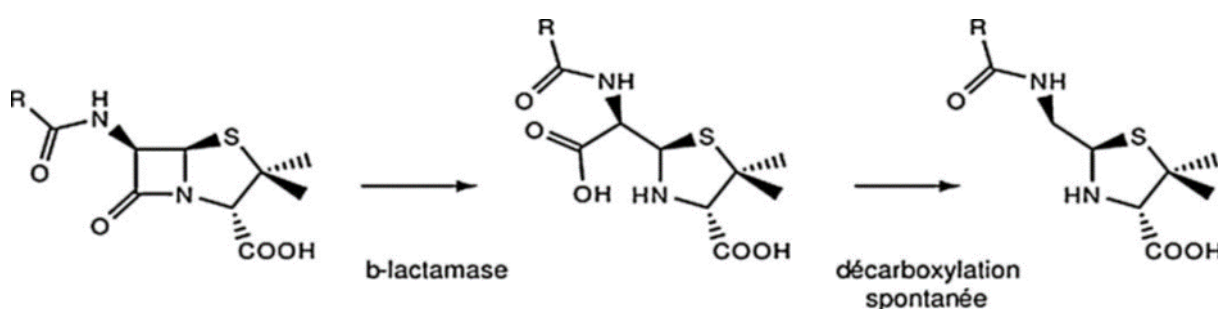


Figure 1 : Mécanisme d'hydrolyse d'une bêtalactamine par une bêtalactamase.

Deux systèmes de classification sont couramment acceptés, établis sur des bases fonctionnelles et moléculaires.

➤ Classification des bêtalactamases à spectre élargi

La classification d'Ambler [16] comporte quatre groupes A, B, C et D (**Tableau III**). Les bêtalactamases de classe A, C et D comportent une sérine active responsable de l'ouverture du cycle beta-lactame. À l'opposé, les bêtalactamases de classe B ont besoin d'un ou deux atomes de zinc ionisé (Zn^{2+}) pour hydrolyser leur substrat et sont ainsi couramment appelées sous le nom de « métallo-enzymes ».

Schématiquement, les bêtalactamases de classe A sont sensibles à l'action de l'acide clavulanique, du sulbactam et du tazobactam qui sont des inhibiteurs des bêtalactamases. On y trouve la majorité des bêtalactamases retrouvées chez *E. coli*, comme TEM, SHV, des bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) comme les CTX-M, et des carbapénémases comme KPC et certains variants de GES (mutation Gly170Ser ou Gly170Asn).

Les bêtalactamases de classe B sont principalement des carbapénémases comme IMP et VIM, elles sont inhibées par l'EDTA.

Les bêtalactamases de classe C sont les céphalosporinases de type AmpC, inhibées par la cloxacilline.

Enfin les bêtalactamases de classe D sont des oxacillinases, qui constituent une famille extrêmement composite en termes de spectre d'hydrolyse.

La classification de Bush et al. est plus ramifiée [17] notamment avec la présence de sous-classes pour les bêtalactamases de classe A (**Tableau III**).

Tableau III : Classification des bêtalactamases selon Bush et al. [17], Ambler [16] et proposition de Giske et al. [18].

Type	Bush	Ambler	Giske	Inhibiteur	Exemple
Céphalosporinase de type AmpC	1	C	ESBL _{M-C}	Cloxacilline	AmpC des entérobactéries du groupe 3 et leurs dérivés plasmidiques
Pénicillinase des bactéries Gram positifs	2a	A	—	Clavulanate	Pénicillinase de <i>Staphylococcus aureus</i>
Pénicillinase à spectre étroit	2b	A	—	Clavulanate	TEM-1, SHV-1
Bêta-lactamases à spectre élargi	2be	A	ESBL _A	Clavulanate	TEM-3, SHV-2, CTX-M, PER, VEB, GES (170Gly)
Pénicillinases résistantes aux inhibiteurs	2br	A	—	—	TEM-30
Complex mutant TEM	2ber	A	ESBL _A	—	TEM-50
Carbénicillinases	2c	A	—	Clavulanate	PSE-1
Oxacillinases	2d	D	—	—	OXA-1
Céfuroximes	2e	A	—	Clavulanate	Céphalosporinase de <i>Proteus vulgaris</i>
Carbapénémases	2f	A	ESBL _{CARBA-A}	Clavulanate	KPC, GES (170Ser et 170Asn)
Métallo-bêta-lactamases	3	B	ESBL _{CARBA-B}	EDTA	VIM, IMP
Autres bêta-lactamases non classées	4	—	—	—	Pénicillinase de <i>Burkholderia cepacia</i>

Le terme BLSE, qui recouvrait les enzymes de type TEM et SHV, a été lui-même étendu aux CTX-M qui ne dérivait pourtant pas de bêtalactamases à spectre étroit. Ainsi, « BLSE » a progressivement désigné les bêtalactamases de classe A d'Ambler présentant un large spectre d'hydrolyse comprenant notamment les C3G.

➤ Différents types de BLSE

✓ Anciennes BLSE

• BLSE de type TEM (Temoniera)

De nombreux dérivés de TEM-1/2 (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *P. aeruginosa* [19,20]. En Europe, les BLSE de type TEM les plus fréquentes sont TEM-24 chez *Enterobacter aerogenes*, TEM-3 et TEM-4 chez *K. pneumoniae*, et TEM-52 chez *Salmonella enterica* et *E. coli* [21]. Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau de 4 «hot spots» de la protéine (positions 104,164, 238 et 240)

[22]. A noter que certains dérivés de TEM (environ 30) ne sont pas des BLSE mais présentent une diminution de sensibilité aux inhibiteurs des bêtalactamases, ce sont les TRI (pour TEM Résistantes aux Inhibiteurs) [19].

- **BLSE de type SHV (Sulphydryl Variable)**

La majorité des dérivés de SHV-1 (> 60) ont un phénotype de BLSE, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe [21]. Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K. pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* [19,20]. Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240) [22].

Enfin, le gène codant pour SHV-12 a été décrit en association avec le déterminant plasmidique de résistance aux quinolones, QnrB [21].

- ✓ **Nouvelles BLSE**

- **BLSE de type CTX-M (Céfotaximase -Munich)**

Ces enzymes «émergentes» pourraient représenter très prochainement les BLSE les plus fréquentes au sein des entérobactéries au niveau mondial après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90 [19,20,23,24]. Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le cefotaxime, d'où leur nom de céfotaximases [23]. En effet, les bactéries productrices de CTX-M sont résistantes au cefotaxime (CMI > 64 µl/mL) et plus ou moins sensibles à la ceftazidime (CMI de 2 à 8 µl/mL), tandis que les CMI de l'aztréonam sont variables [25]. Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des bêtalactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité) [23]. A ce jour, de nombreuses variantes de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45 [26].

Les enzymes Toho-1/2, décrites au Japon, sont très proches structuralement des CTX-M et sont donc classées parmi celles-ci [23]. A noter que certaines variantes (ex. CTX-M-15, CTX-M-32) avec une activité de ceftazidimase élevée (CMI > 256 µl/mL) ont été décrit (mutation ponctuelle en position 240) [23,26].

Les progéniteurs des CTX-M ont été identifiés sur le chromosome de *Kluyvera spp.* qui est une entérobactérie non pathogène environnementale. En effet, les progéniteurs des gènes codant

pour les CTX-M des groupes 1 et 2 et pour celles des groupes 8 et 9 sont respectivement *K. ascorbata* et *K. georgiana*, tandis que les sources des CTX-M des groupes 25 et 45 restent inconnues [27]. Depuis leurs progéniteurs, les gènes ont été capturés grâce à des éléments génétiques mobiles type séquence d'insertion (ex. *ISEcp1*, *ISCR1*) ou à des phages, et transférés sur des plasmides conjugatifs qui ont ensuite diffusé parmi les entérobactéries pathogènes [22,26,27]. Les souches productrices de CTX-M ont été initialement rapportées de façon sporadique à la fin des années 80 au Japon (FEC-1), en Europe (MEN-1, CTX-M-1) et en Argentine (CTX-M-2) [23].

- **BLSE de type PER (*Pseudomonas* Extended Resistance)**

L'enzyme PER-1, initialement découverte en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie, est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* mais a aussi été détectée chez *S. enterica* sérovar Typhimurium, *Providencia spp.*, *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis* [28]. En Turquie, une étude récente a montré que 32 % des souches résistantes à la ceftazidime de *P. aeruginosa* et 55 % de celles de *A. baumannii* étaient productrices de PER-1 [25]. Une seconde enzyme, PER-2 (86 % d'identité avec PER-1), a été détectée en 1996 chez *S. enterica* sérovar Typhimurium en Argentine, et depuis chez d'autres entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *A. baumannii* [25,28]. Tandis que PER-1 est surtout présente en Turquie et en Corée du Sud (quelques cas décrits en Italie, France et Belgique), PER-2 n'a été détectée qu'en Amérique du Sud. Enfin, une souche de *P. aeruginosa* produisant à la fois PER-1 et la carbapénémase VIM-2 a été détectée en Italie [28].

- **BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Betalactamase)**

L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée en 1996 chez une souche d'*E. coli* isolée chez un patient vietnamien puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande [25,28]. A ce jour, 4 dérivés de VEB-1 ont aussi été décrits (VEB-2 à VEB-5). VEB-1 a été détectée chez *P. aeruginosa* au Koweït, en Chine, en Inde et au Bangladesh, chez *A. baumannii* en France, en Belgique et en Argentine, chez *P. stuartii* en Algérie, chez *Enterobacter cloacae* et *Achromobacter xylosoxidans* en France, et chez *E. coli* au Canada [25]. Plusieurs épidémies nationales ont été rapportées : *A. baumannii* VEB-1 en France et en Belgique ; *P. mirabilis* VEB-1 en Corée du Sud ; et *E. cloacae* en Chine. Enfin, à noter que le gène codant pour VEB-1 est souvent localisé au sein d'un intégron et peut donc être associé à d'autres gènes de résistance comme *qnrA*, déterminant plasmidique de la résistance aux quinolones [25].

- **BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Betalactamase)**

Les BLSE de type GES sont de plus en plus rapportées chez les BGN. A ce jour, 9 variants différents ont été décrits dont GES-2 en Afrique du Sud, GES-5 à GES-8 (GES-7 = IBC-1 ; GES-8 = IBC-2) en Grèce, GES-3 et GES-4 au Japon, GES-5 en Corée du Sud, en Chine et au Brésil, et GES-9 en France [25]. A noter que, contrairement à la plupart des BLSE, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et surtout GES-2 hydrolyse les carbapénèmes en étant moins sensible aux inhibiteurs des bêtalactamases. Par une unique mutation, GES-2 est le premier exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes ; depuis, 4 autres dérivés ont été décrits (GES-4 à GES-6, GES-8) [25]. De façon inquiétante, des souches de *P. aeruginosa* produisant GES-1 et la carbapénémase VIM-11 et d'*E. coli* produisant GES-7 et la carbapénémase VIM-2 ont été décrites respectivement en Argentine et en Grèce. Enfin, plusieurs épidémies de BGN producteurs de BLSE de type GES ont été rapportées : *K. pneumoniae* en Corée du Sud, au Portugal et en Grèce, *S. marcescens* aux Pays-Bas, et *P. aeruginosa* en Afrique du Sud [25].

- **Autres BLSE de classe A**

L'enzyme SFO-1 (*Serratia fonticola*) n'a été détectée qu'une seule fois chez une souche de *E. cloacae* isolée au Japon en 1988 [25].

L'enzyme BES-1 (Brazilian extended-spectrum β -lactamase) n'a été isolée qu'une seule fois à partir d'une souche de *S. marcescens* au Brésil en 1996 [25].

L'enzyme BEL-1 (Belgium extended-spectrum β -lactamase) a été identifiée dans une souche de *P. aeruginosa* en Belgique en 2004. De récents travaux suggèrent que le gène codant pour BEL-1 pourrait disséminer dans les souches de *P. aeruginosa* en Belgique [25].

L'enzyme TLA-1 (Tlahuicas - tribu indienne) a été décrite dans une souche de *E. coli* isolée au Mexique en 1993. Depuis, plusieurs cas de bactériémies et d'infections urinaires nosocomiales dues à une souche de *K. pneumoniae* produisant à la fois SHV-5 et TLA-1 ont été rapportés au Mexique. A noter que TLA-1 n'a été identifié qu'au Mexique [25].

Le gène codant l'enzyme TLA-2 est porté par un plasmide de 47 kb (pRSB101) isolé à partir d'eaux usées de traitement de plantes en Allemagne en 2002.

Cependant, l'espèce hébergeant ce déterminant n'a pas pu être identifiée et aucune souche TLA-2-positive n'a été décrite à ce jour.

- **BLSE de type OXA (Oxacillinase)**

Bien que les BLSE appartiennent souvent à la classe A, plusieurs oxacillinases (classe D et classe 2d) ont des propriétés de BLSE [19 - 20 - 29]. Les bêtalactamases de type OXA confèrent la résistance à l'ampicilline et à la céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline). De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique [20]. La plupart des bêtalactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C3G/C4G mais l'évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers un élargissement du spectre a dû avoir lieu comme pour les dérivés de TEM/SHV2, [25].

Les bêtalactamases de type OXA représentent une famille phylogénétiquement très hétérogène et les BLSE de type OXA dérivent de OXA-10, de OXA-13, de OXA-2 ou sont non reliées (OXA-18, -45) [20 - 25]. Bien que la plupart des BLSE dérivées de OXA-10 confèrent une résistance plus élevée au cefotaxime, les activités enzymatiques des BLSE de type OXA sont très variables. Les BLSE de type OXA sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont aussi été détectées chez d'autres BGN dont les entérobactéries [20 - 25]. Découvertes initialement chez *P. aeruginosa* en Turquie, elles ont ensuite été décrites en France, à Taïwan, en Corée et aux Etats-Unis. Malheureusement, très peu d'études épidémiologiques ont été menées pour évaluer la dissémination des BLSE de type OXA [25].

- ❖ **Diminution de la perméabilité**

C'est chez *E. coli* que la relation entre les porines et la résistance aux bêtalactamines a été le mieux étudiée [30]. Deux porines OmpF et OmpC sont présentes chez *E. coli*. Il a été démontré que l'absence des OmpC ne s'accompagnait pas d'augmentation de la résistance alors que l'absence des OmpF s'accompagne d'une résistance à l'ampicilline et à la céfoxitine (4 x CMI) sans modification de la CMI pour la céphaloridine. Ces résultats témoignent d'un passage préférentiel des bêtalactamines à travers la porine OmpF. La suppression des 2 porines OmpF et OmpC s'accompagne d'une résistance marquée à ces trois antibiotiques (32 x CMI). Des résultats variables ont été obtenus pour les céphalosporines de 3^{ème} génération [31,32] avec généralement une faible augmentation plus marquée pour le moxalactam (10 - 100 x CMI). Alors qu'il n'existe pas de mutant de porines d'*Escherichia coli* rapporté en clinique, de tels mutants obtenus in vitro et in vivo ont été rapportés dans d'autres espèces, comme les *Salmonella*, les *Klebsiella*, les *Serratia* et les *Enterobacter* [31,33 - 37] (Tableau IV). Dans ces espèces, la résistance est croisée pour toutes les bêtalactamines excepte l'imipénème, peu marquée par l'aztréonam et le cefotaxime (4 - 10 x CMI), elle est souvent importante pour le

moxalactam et la céfoxitine (10 - 100 x CMI). Les mutants par imperméabilité s'accompagnant d'altération de protéine de la membrane externe rapportes en clinique chez *H. influenzae* et *N. gonorrhoeae* [38,39] n'auraient qu'une faible augmentation de leur CMI aux bêta-lactamines.

❖ Phénomène d'efflux

L'hyperexpression des systèmes d'efflux représente un mécanisme de résistance aux antibiotiques très répandu et a été décrite chez de nombreuses espèces bactériennes à Gram positif ou à Gram négatif d'intérêt médical comme les staphylocoques, les streptocoques, les entérobactéries ou *P. aeruginosa*. Cependant, les résistances acquises aux bêta-lactamines liées à l'hyperexpression de ces systèmes d'efflux n'ont été décrites que chez des bactéries à Gram négatif comme *E. coli*, *P. aeruginosa* ou *N. gonorrhoeae* (Tableau IV) [40, 41,42].

Tableau IV : Exemples de systèmes d'efflux de bactéries à Gram négatif incluant les bêta-lactamines dans leur spectre de substrat [40,41]

Bactérie	Système d'efflux	Substrats antibiotiques ^a
<i>Escherichia coli</i>	AcrAB-TolC	β-lactamines, quinolones, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexAB-OprM	toutes β-lactamines sauf l'imipénème ^b , quinolones, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine, triméthoprim, sulfaméthoxazole
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexCD-OprJ	β-lactamines ^c sauf les carbapénèmes, la ceftazidime et l'aztréonam, quinolones, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine, triméthoprim
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mex XY-OprM	β-lactamines sauf l'imipénème ^b , quinolones, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	MtrCDE	β-lactamines, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol

^a L'hyperexpression des systèmes d'efflux confère une augmentation de deux à huit dilutions des concentrations minimales inhibitrices pour les antibiotiques substrats.
^b Le méropénème est touché, contrairement à l'imipénème.
^c Parmi les β-lactamines anti-*Pseudomonas*, la céfépime et la ceftiprome sont les plus touchées.

Cette hyperexpression fait souvent suite à des mutations survenant dans les gènes répresseurs qui régulent la transcription de tous ces systèmes transporteurs, comme par exemple le gène *mexR* pour la pompe MexAB-OprM de *P. aeruginosa* ou le gène *mtrR* pour la pompe MtrCDE de *N. gonorrhoeae* [40,41,42].

D'autre part, chez les entérobactéries comme *E. coli*, l'hyperproduction de l'activateur transcriptionnel MarA (*multiple antibiotic resistance*), qui résulte de la mutation du répresseur *marA*, est capable à la fois de diminuer la porine OmpF en diminuant la traduction du gène *ompF* et de stimuler l'expression de nombreux gènes dont certains codent pour des pompes d'efflux actif comme le système AcrAB [41]. Ces systèmes d'efflux sont surtout actifs sur les bêta-lactamines les plus hydrophobes qui ne passent pas la barrière de la membrane cytoplasmique et s'accumulent dans l'espace périplasmique [41,43,44]. Ils agissent en synergie

avec la barrière d'imperméabilité bactérienne que représentent la membrane externe et les bêtalactamases constitutives. Leur hyperexpression chez des espèces naturellement peu perméables et possédant une céphalosporinase constitutive Amp-C comme *P. aeruginosa* peut conférer des résistances croisées cliniquement significatives à des antibiotiques appartenant à différentes familles comme les bêtalactamines, les quinolones, le chloramphénicol ou les tétracyclines [40]. De même, chez *N. gonorrhoeae*, une synergie entre l'hyperexpression de la pompe d'efflux MtrCDE et une mutation de la porine majeure PorIB (gène *penB*) qui module l'entrée de la pénicilline et de la tétracycline peut conférer une résistance à ces antibiotiques [42].

❖ Modification de la cible

L'altération des PLP n'a été que rarement démontrée chez les bactéries à Gram négatif [38,45,46]. In vitro, on a montré que des mutations touchant la PLP2 d'*E. coli*, s'accompagnaient d'une résistance vis-à-vis du mécillinaam et de l'imipénème alors que celles touchant la PLP3 s'accompagnaient d'une résistance vis-à-vis des céphalosporines [46].

A partir de souches de gonocoque et d'*Haemophilus influenzae* isolées en clinique, on a montré que des diminutions d'affinité d'une ou deux PLP étaient responsables d'augmentation modérée de la résistance à l'ensemble des bêtalactamines [38,39]. Il est probable que ce mécanisme non enzymatique soit le plus fréquent dans ces espèces et particulièrement pour *Haemophilus*. Chez *Pseudomonas*, il a été montré que deux souches résistantes sélectionnées respectivement en présence de pipéracilline et de cefsulodine, s'accompagnaient d'une altération de plusieurs PLP et que dans l'une des souches, une anomalie de la membrane externe était associée [38,47].

2.5.2. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des inhibiteurs de la synthèse protéique des bactéries. Ils se fixent de manière irréversible sur la sous-unité 30 S du ribosome procaryote, plus précisément sur certaines des 21 protéines ribosomales de cette sous-unité ainsi que sur la molécule d'ARN ribosomique (ARNr) 16S.

Trois principaux mécanismes de résistance aux aminosides ont été identifiés :

- Production d'enzymes inactivant les aminosides, par adénylation, acétylation ou phosphorylation. Les gènes codant pour ces enzymes sont le plus souvent portés par des plasmides. Le phénomène de transmission plasmidique pose des problèmes épidémiologiques importants. Ce mécanisme de résistance est le plus fréquemment rencontré ;

- Blocage de l'influx de l'aminoside dans la bactérie. Ce mécanisme peut résulter de la mutation d'un gène codant pour une protéine des porines ou pour une protéine impliquée dans le maintien du potentiel de membrane. De plus, la diminution de l'influx des aminosides dans la bactérie peut être aussi d'origine environnementale comme lors de la croissance bactérienne en condition anaérobie ;
- Mutation des protéines ribosomales de la sous-unité 30 S ciblée par les aminosides. Ce mécanisme, peu fréquent, provoque une diminution de l'affinité des aminosides à leur cible cellulaire.

2.5.3. Résistance aux quinolones

Les quinolones inhibent l'action des topoisomérases de type II : l'ADN gyrase et la topoisomérase IV [48]. Ces enzymes sont essentielles à la croissance bactérienne en contrôlant la topologie de l'ADN lors des étapes de réplication, de transcription, et de recombinaison/réparation de l'ADN. Ces enzymes tétramériques, homologues entre elles, sont constituées de deux sous-unités GyrA et GyrB (ADN gyrase) ou ParC et ParE (topoisomérase IV). L'ADN gyrase est généralement la cible préférentielle chez les bactéries à Gram négatif. Les fluoroquinolones sont très utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries, notamment les infections urinaires et digestives. *Escherichia coli* est l'espèce-type de cette famille, et les mécanismes décrits chez cette espèce sont similaires à ceux retrouvés chez les autres espèces d'*Enterobacteriaceae*.

Alors que la résistance de bas niveau aux fluoroquinolones peut être due à différents mécanismes (mutation unique dans GyrA, imperméabilité/efflux actif, résistance plasmidique), la résistance de haut niveau est toujours due à l'accumulation de plusieurs mutations dans les QRDR des topoisomérases de type II (**Tableau V**) [49].

Cette résistance de haut niveau est souvent facilitée par les mécanismes de résistance de bas niveau.

Les premières mutations apparaissent dans la QRDR de GyrA, préférentiellement au niveau des codons 83 et 87, ce qui confère un haut niveau de résistance à l'acide nalidixique et un bas niveau de résistance à la ciprofloxacine (**Tableau V**) [50,51]. Des mutations ont été décrites au niveau du codon 81 avec un phénotype atypique de résistance aux fluoroquinolones et de sensibilité à l'acide nalidixique, mais elles restent exceptionnelles [52]. Des mutations dans ParC n'apparaissent qu'après une ou plusieurs mutations dans GyrA, résultant en une résistance de haut niveau à toutes les fluoroquinolones (**Tableau V**) [50,51]. Quelques mutations de GyrB ont aussi été rapportées tandis que les mutations dans ParE sont exceptionnelles.

Tableau V : Phénotypes de résistance aux quinolones chez *E. coli* [50,51,53,54].

CMI Nal ^{a,c} (mg/L)	CMI Cip ^{b,c} (mg/L)	Mécanisme(s) de résistance probable(s)
2-4 [S]	0,01 [S]	Sauvage
2-4 [S]	0,04-0,08 [S]	AAC(6')-Ib-cr
2-4 [S]	0,12-0,25 [S]	QepA
8-32 [I/R]	0,12-0,25 [S]	Qnr
128-256 [R]	0,25 [S]	1 mutation GyrA ± efflux
512-> 2 000 [R]	1-4 [I/R]	1 mutation GyrA + 1-2 mutation(s) ParC 1 mutation GyrA + 1 mutation GyrB + 1 mutation ParC
> 2 000 [R]	8-64 [R]	2 mutations GyrA + 1 mutation ParC
> 2 000 [R]	64-128 [R]	2 mutations GyrA + 2 mutations ParC

^a Nal, acide nalidixique.
^b Cip, ciprofloxacine.
^c [], rendu au clinicien : S, sensible ; I, intermédiaire ; R, résistant.

La diminution de perméabilité (impliquant la porine OmpF) et l'efflux actif (médié par le système AcrAB-TolC) sont responsables d'une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones hydrophiles (ex. norfloxacine, ciprofloxacine) (**Tableau V**) [49,55].

Trois mécanismes de résistance plasmidique, responsables d'un phénotype de résistance de bas niveau, ont aussi été décrits chez les entérobactéries [56]. Le premier est dû à une protection de la cible par les protéines Qnr et confère une résistance à l'acide nalidixique et une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones (**Tableau V**) [53]. Le deuxième mécanisme implique l'acétyltransférase AAC (6')-Ib-cr qui inactive certaines fluoroquinolones (norfloxacine et ciprofloxacine) avec une légère diminution de sensibilité (**Tableau V**) [57]. Enfin, le troisième mécanisme est un efflux actif plasmidique (pompe QepA) responsable d'une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones hydrophiles (ex. norfloxacine, ciprofloxacine) (**Tableau V**) [54,58].

3. POUVOIR PATHOGENE

Les entérobactéries constituent plus de 80 % des germes isolés en laboratoire : *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella* et *Yersinia* sont les entérobactéries les plus souvent retrouvées.

❖ *Escherichia coli*

C'est un germe très courant. Son habitat est le colon humain. Sa survie est extrêmement difficile dans l'environnement. Il est le genre préférentiel des infections urinaires. L'incidence de ces infections est plus marquée chez les personnes de sexe féminin en milieu communautaire en raison notamment de la colonisation de la région péri-urétrale et de la longueur de l'urètre. En milieu hospitalier, l'incidence est égale entre les deux sexes en rapport essentiellement avec l'utilisation fréquente des sondes urinaires.

E. coli cause également des infections du tractus digestif notamment *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC) qui est responsable de la diarrhée du voyageur et *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC) responsable de diarrhées chez l'enfant, en raison de la contamination de l'eau ou des aliments par la flore fécale des malades ou des porteurs sains

E. coli est aussi à l'origine d'infections pulmonaires chez les personnes gravement malades par colonisation des voies respiratoires supérieures.

E. coli peut coloniser le vagin et être responsable des méningites néonatales (sérotype K1) après un accouchement ou suite à l'infection du liquide amniotique consécutive à une rupture prolongée des membranes.

❖ *Klebsiella pneumoniae*

L'habitat de *K. pneumoniae* est le tractus digestif et le système respiratoire supérieur. Ce germe est principalement isolé en milieu hospitalier, le portage étant fortement accru chez les patients hospitalisés de longues périodes ou bénéficiant de traitements antibiotiques au long court. Toutefois, il est également présent en dehors des hôpitaux, notamment chez des patients diabétiques, ou souffrants de maladies respiratoires chroniques. Bien que la plupart des personnes colonisées soient asymptomatiques, *K. pneumoniae* peut causer des pneumonies, des bronchites et broncho-pneumonies, la contamination pulmonaire se faisant surtout par voie aérienne, mais la voie hématogène n'étant pas exclue. *K. pneumoniae* a été longtemps décrit comme le pneumo bacille de Friedlander. C'est une bactérie également retrouvée dans des infections urinaires suite au passage de la flore fécale aux voies urinaires. Finalement, des bactériémies compliquent parfois les infections localisées mentionnées ci-dessus.

❖ ***Klebsiella oxytoca***

Cette bactérie est isolée de produits pathologiques comme les urines, le sang et les sécrétions naso-pharyngées et trachéales. A l'instar de *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* peut infecter les voies urinaires et respiratoires des patients hospitalisés.

❖ ***Enterobacter cloacae***

C'est un germe qui colonise souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux de la réanimation ou chez ceux qui sont sous traitement antibiotique au long cours. Il peut être à l'origine d'infections urinaires de pneumonies, ainsi que d'infection cutanées. Il peut également être responsable de bactériémies, et c'est un pathogène dont l'incidence en milieu hospitalier a considérablement augmenté ces dernières années. Il est principalement isolé chez des patients en unité de réanimation et est le germe le plus incriminé dans les infections associées aux soins (IAS).

❖ ***Salmonella***

Depuis 2004, le genre *Salmonella* comporte, trois espèces : *Salmonella enterica*, *S. bongori* et *S. subterranea*. L'espèce principale est *S. enterica* qui comprend elle-même six sous-espèces dont la plus fréquente est *S. enterica enterica*, elle-même divisée en plusieurs sérovars : *dublin*, *enteritidis*, *infantis*, *paratyphi*, *typhi*, *typhimurium*, *virchow*, etc

Les salmonelloses recouvrent deux principaux types d'infections : d'une part, la fièvre typhoïde et les fièvres paratyphoïdes et d'autre part les salmonelloses non typhiques (ou non typhoïdiques). La fièvre typhoïde est due à *S. enteritica*, sérovar *S. typhi* (bacille d'Eberth). Elle est devenue rare dans les pays industrialisés du fait des progrès de l'hygiène et de l'amélioration des conditions d'approvisionnement en eau potable. Les fièvres paratyphoïdes sont dues à *S. paratyphi* A, B et C.

Après l'ingestion, les bacilles typhiques adhèrent sur les entérocytes et les follicules lymphoïdes (cellules M des plaques de Peyer), sont internalisés par le système actine-dépendant, accèdent à la lamina propria, sont phagocytés par les macrophages dans lesquels ils se multiplient et rejoignent les ganglions mésentériques. Quelques bacilles gagnent le courant sanguin, la plupart sont détruits dans les ganglions lymphatiques. Leur lyse libère l'endotoxine qui va imprégner les terminaisons nerveuses du système neurovégétatif abdominal, créent des lésions intestinales qui sont envahies ensuite par les salmonelles éliminées dans la bile. L'endotoxine diffuse dans tout l'organisme et se fixe sur les centres nerveux diencéphaliques et sur d'autres organes, dont le myocarde. De l'importance de l'inoculum, des possibilités de défense de l'hôte dépendent la gravité des symptômes.

❖ **Shigella**

Les shigelles sont des entérobactéries à Gram négatif. On en distingue quatre espèces : *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*.

Il y a dans chaque espèce plusieurs sérotypes, *Shigella dysenteriae* type 1 (Sd1) ou bacille de Shiga, est cause de la forme épidémique, *S. flexneri* 2a est responsable de la forme endémique. Les shigelles sont des bactéries liées à l'homme : elles ne sont pas retrouvées dans la nature en dehors de l'environnement humain.

Les manifestations cliniques des shigelles sont liées à un phénomène invasif avec envahissement des cellules intestinales, multiplication intracellulaire et destruction des cellules. Il s'ensuit une importante inflammation de la muqueuse accompagnée d'une diarrhée glairo-sanglante. A ce mécanisme invasif s'ajoute pour Sd1 la sécrétion d'une toxine (ou shiga-toxine), cytotoxique, responsable de la composante hydrique de la diarrhée.

4. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

4.1. Examen macroscopique

En fonction du produit pathologique, on peut isoler et identifier ces entérobactéries.

4.2. Examen microscopique

❖ **Etat frais**

Les espèces mobiles les plus nombreuses le sont grâce à une ciliature péritriche. Certaines sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*).

❖ **Coloration de Gram**

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif mesurant 2-3 µm de long sur 0,6 µm de large.

4.3. Culture

Les entérobactéries poussent facilement sur milieux ordinaires et milieu sélectif comme EMB (Eosine Méthylène Blue) en 24 heures à 37°C en aérobie et en anaérobie.

Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R).

Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes. Les *Proteus* ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme.

4.4. Identification

L'identification des *Enterobacteriaceae* est d'abord basée sur la morphologie suivie des caractères biochimiques, complétés pour certains genres par la sérotypie. Celle-ci n'a de sens qu'une fois le genre ou l'espèce déterminée car les communautés antigéniques inter-genre et inter-espèce sont nombreuses.

4.5. Antibiogramme

L'antibiogramme est réalisé avec une souche pure isolée sur milieu Mueller-Hinton (MH), en préparant un inoculum bactérien. La densité de la suspension est ajustée à 0,5 McFarland et 1 ml de cette suspension est ajouté à 9 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir ainsi une dilution au 1/10^e.

Avec un écouvillon, on ensemence une gélose MH à partir de la dilution au 1/10^e.

Les disques d'antibiotiques de la famille des bêta-lactamines à testés sont disposés sur milieu MH coulé en boîte de pétri circulaire (diamètre 90 cm) à la recherche d'image de synergie dite de « bouchon de champagne » signifiant ainsi que la souche est productrice de BLSE.

Pour mettre en évidence cette image, le disque d'AMC est déposé au centre de la boîte entouré des disques de C3G (ceftriaxone, ceftazidime, cefotaxime) distant de 30 mm du disque central (AMC) (**Figure 2**).

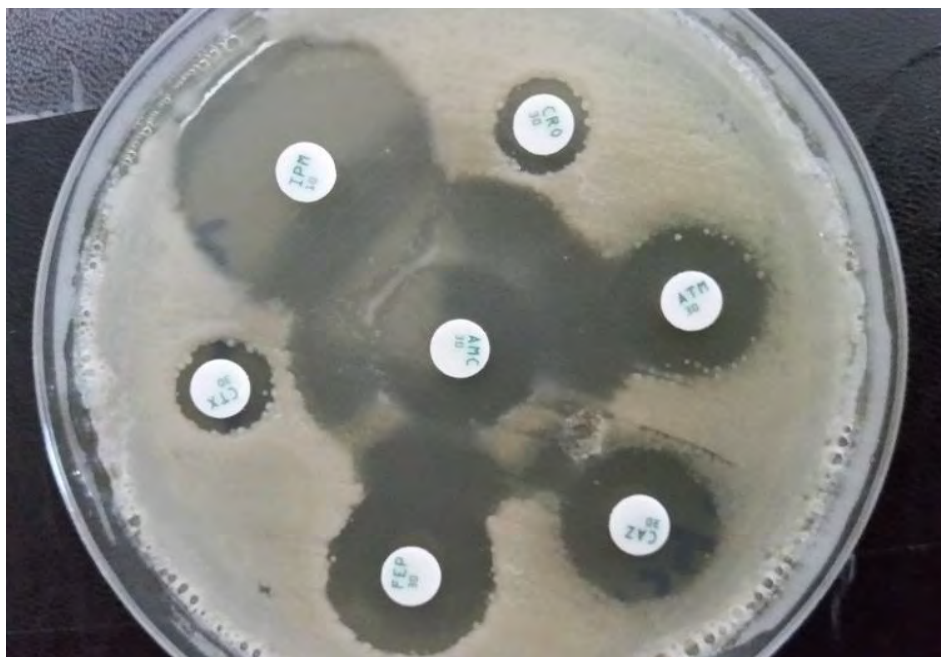


Figure 2 : Souche productrice de BLSE : image dite en « bouchon de champagne »

Les disques d'antibiotiques de la famille des aminosides, des quinolones, des phénicolés, des polymyxines (colistine) et la fosfomycine sont déposés sur milieu MH coulé en boîte de pétri carré (diamètre 120 cm). La mesure des diamètres d'inhibition se fait après 18 à 24 heures incubation à 37°C. Suivant l'abaque de lecture une souche est dite sensible, intermédiaire ou résistante à un antibiotique (**Tableau VI**).

Tableau VI : Liste des antibiotiques testés à l'antibiogramme des entérobactéries (CA-SFM 2016)

Antibiotiques	Abréviations	Charge (µg)	Diamètres critiques (mm)	
			$\Phi \geq D$ Sensible	$\Phi < d$ Résistant
Amoxicilline	AMX	20	19	19
Amox. + Ac. Clav	AMC	20 - 10	19	19
Ticarcilline	TIC	75	23	23
Pipéracilline	PIP	30	20	17
Céfalotine	CF	30	18	12
Céfoxitine	FOX	30	19	15
Céfotaxime	CTX	5	20	17
Ceftriaxone	CRO	30	23	20
Ceftazidime	CAZ	10	22	19
Céfépime	FEP	30	24	21
Aztréonam	ATM	30	24	21
Imipénème	IPM	10	22	16
Chloramphénicol	C	30	17	17
Tobramycine	TOB	10	17	14
Gentamycine	GM	10	17	14
Amikacine	AN/ AK	30	16	13
Netilmicine	NET	10	15	12
Cotrimoxazol	Sxt/Cot	1,25/ 23,75	16	13
Ac. nalidixique	NA	30	19	14
Fosfomycine	FOS	200	16	13
Péfloxacin	PEF	5	24	24
Norfloxacin	NOR	10	22	19
Ciprofloxacine	CIP	5	22	19
Lévofloxacine	LEV	5	22	19
Nitroxoline	NI	20	30	12
Colistine	CS	50	15	15

DEUXIEME PARTIE

I. CADRE, TYPE ET PERIODE D'ETUDE

1. Cadre d'étude

Notre étude a été réalisée au laboratoire de Bactériologie-Virologie du Centre Hospitalier National Universitaire(CHNU) de Fann de Dakar qui comporte de nombreux services d'hospitalisation et un Centre de Diagnostic et d'Imagerie Médicale où est logé le laboratoire de Bactériologie-Virologie qui reçoit quotidiennement différents prélèvements en provenance de différents services d'hospitalisation (patients internes) et de patients suivis à titre externes.

2. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude rétrospective couvrant la période de janvier 2015 à décembre 2016 portant sur la prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi et/ou résistantes à l'imipénème au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU/FANN.

II. MATERIELS ET METHODE

1. Matériels

Nous avons sélectionné les fiches d'antibiogramme (ABG) des entérobactéries correctement identifiées et isolées de produits pathologiques à visée diagnostique reçus au laboratoire.

❖ Critères d'inclusion

- Entérobactéries avec fiche d'ABG disponible et interprétée.
- Entérobactéries complètement identifiée.

❖ Critères de non inclusion

- Fiches d'ABG d'entérobactéries non disponible.
- Souches non identifiées.
- Fiches d'ABG d'entérobactéries avec un phénotype non interprétable.

2. Méthodologie

Les fiches d'ABG d'entérobactéries et les registres de paillasse ont été utilisés pour recueillir les données sociodémographiques (âge, sexe...). Ces dernières ont été saisies et exploitées grâce au logiciel Epi Info dans sa version 3.5.4.

III. RESULTATS

1. Répartition des souches selon le sexe

Nous avons colligé 1185 fiches d'ABG d'entérobactéries isolées de prélèvements chez des patients de sexe masculin dans 50,9% des cas (n=603) et de sexe féminin dans 45% (n=533) soit un sex ratio de 1,13 (**Figure 3**).

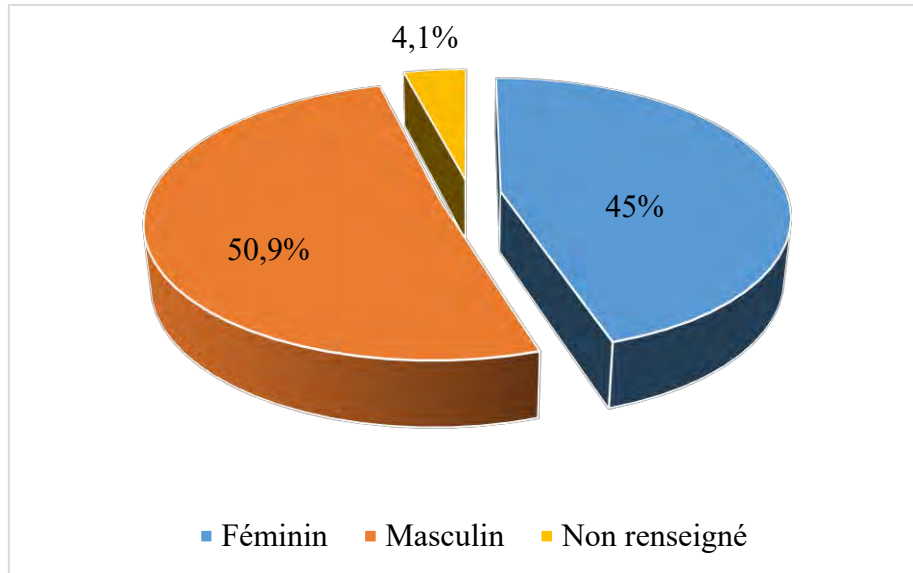


Figure 3 : Répartition des souches selon le sexe

2. Répartition des souches selon l'âge

Les souches d'entérobactéries étaient isolées de patients âgés de 1 à 98 ans avec une moyenne de 45 ans. Les tranches d'âges les plus représentées étaient 20 à 40 ans et 60 à 80 ans (**Figure 4**).

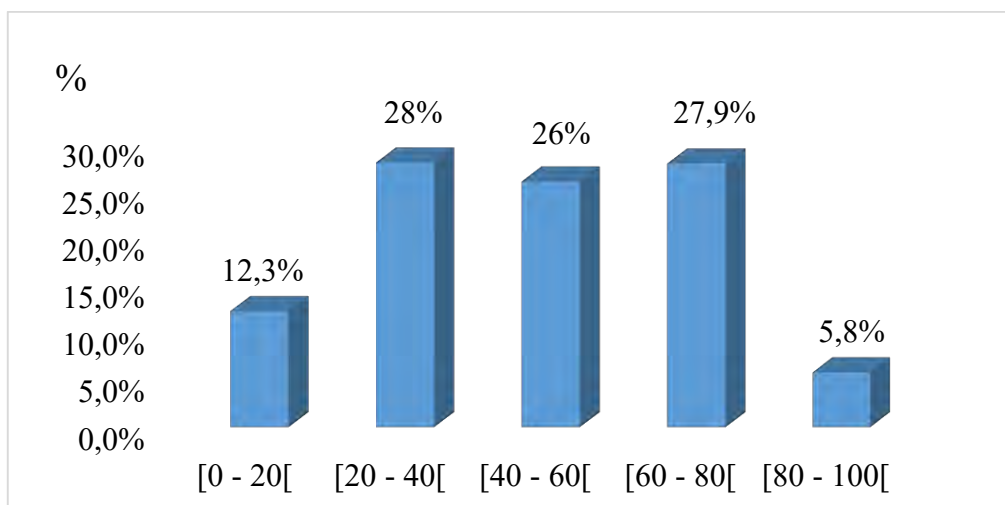


Figure 4 : Répartition des souches selon l'âge

3. Répartition des souches selon l'année d'étude

Selon l'année d'étude, 60% (n=711) des entérobactéries étaient isolées en 2015 et 40% en 2016 (n=474). (**Figure 5**).

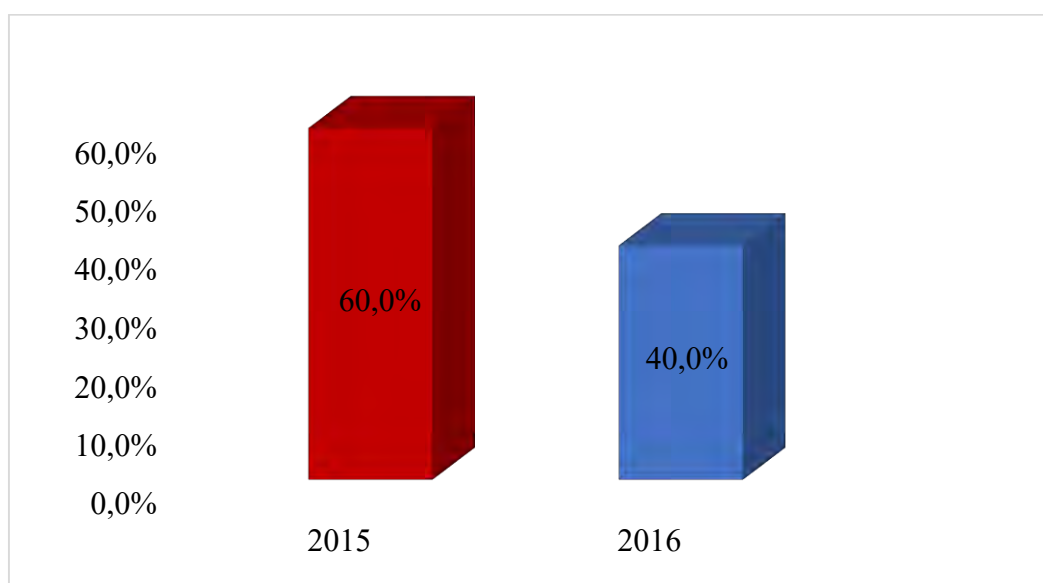


Figure 5 : Répartition des souches selon l'année d'étude

4. Répartition des souches selon l'origine des échantillons

Les isolats venaient majoritairement de patients externes avec 53% (n=628). Pour les souches isolées des patients hospitalisés 47% (n=557), le service le plus représenté était le service de neurologie avec un pourcentage de 14,6 (n=173), ensuite le service de pneumologie avec 10% (n=118) et celui des maladies infectieuses et tropicales avec 9,15% (n=108) (**Figure 6**).

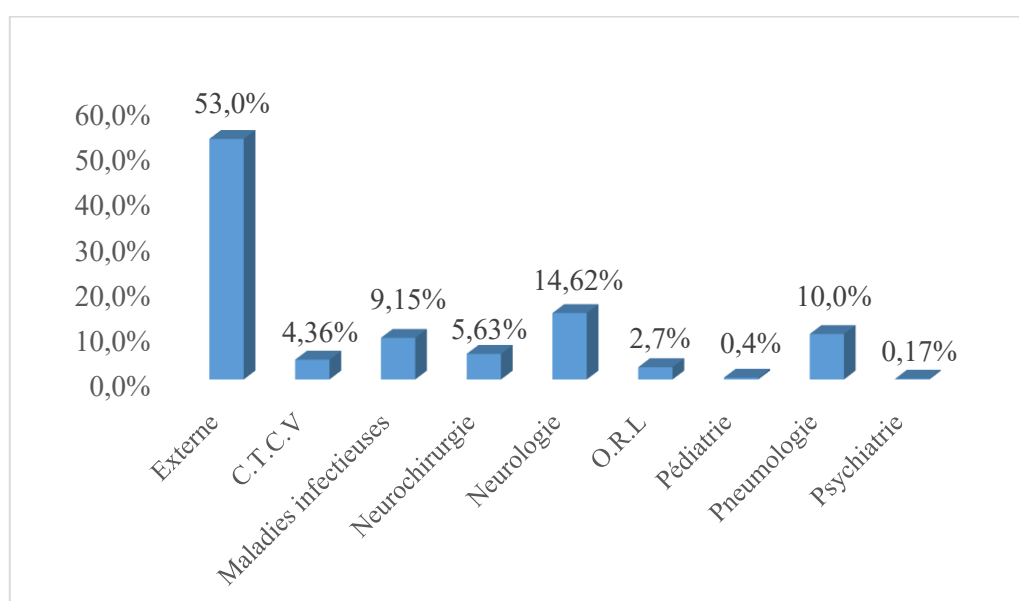


Figure 6 : Répartition des souches selon l'origine des échantillons

5. Répartition des souches selon la nature du produit pathologique

Les prélèvements d'urines étaient plus représentatifs de notre échantillonnage avec 56,2% (n=666), puis suivent les prélèvements de pus soit 22% (n=261) (Figure 7).

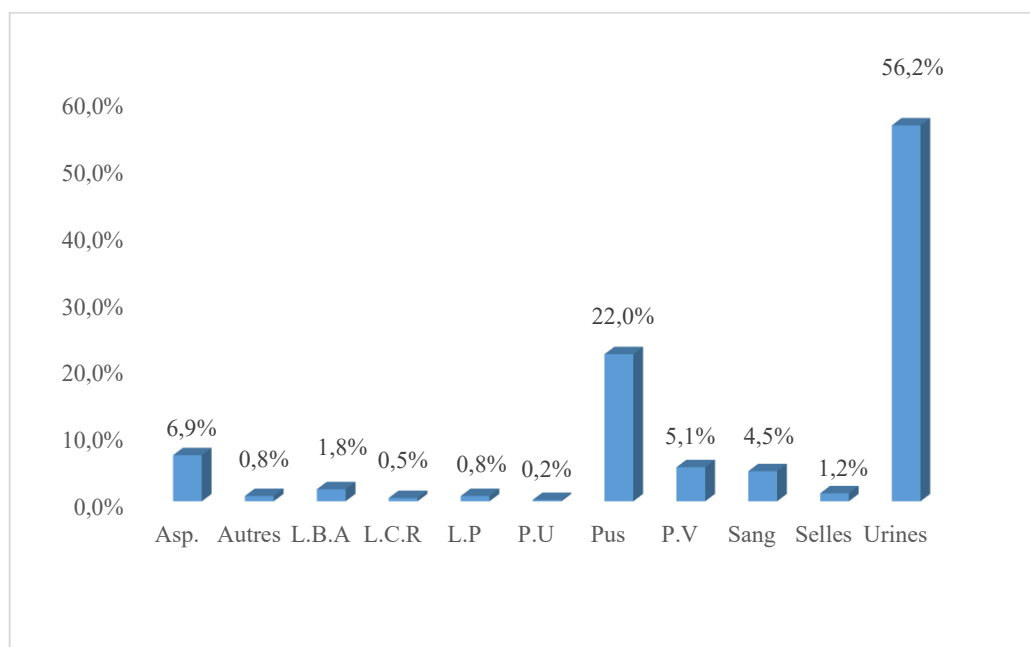


Figure 7 : Répartition des souches selon la nature du produit pathologique

6. Répartition des souches selon l'espèce d'entérobactérie

L'essentiel des souches d'entérobactéries était représenté par *Escherichia coli* soit 47% (n=557), suivi de *Klebsiella pneumoniae* 20,7% (n=245) et d'*Enterobacter spp* 18,9% (n=224). (Figure 8).

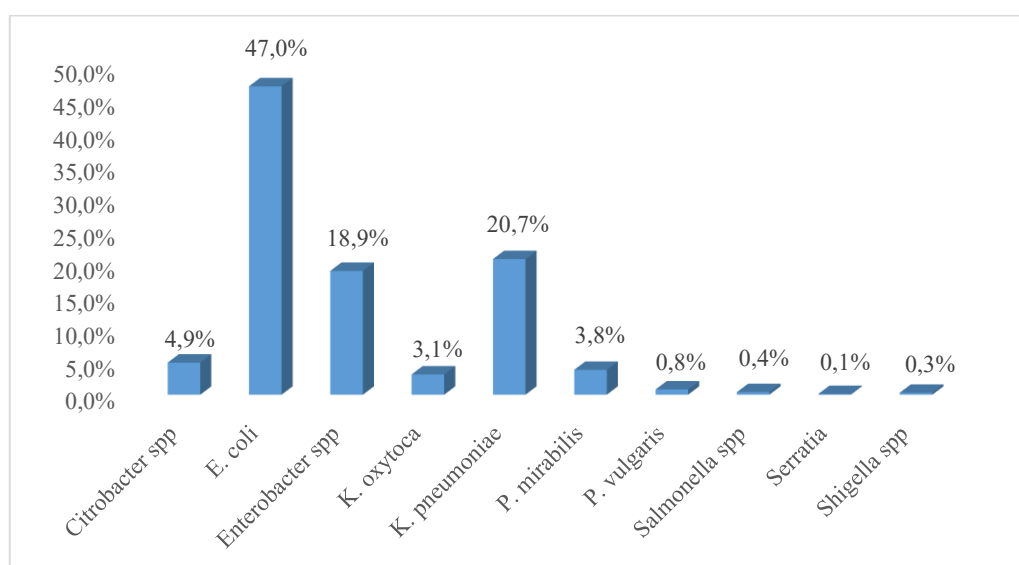


Figure 8 : Répartition des souches selon l'espèce d'entérobactérie

7. Répartition des souches selon les phénotypes

Le phénotype BLSE était majoritaire avec 38,7% (n=459), suivi du phénotype pénicillinase à haut niveau avec 31,3% (n=371). Les souches résistantes à l'imipénème représentaient 1,0% (n=12). (Figure 9).

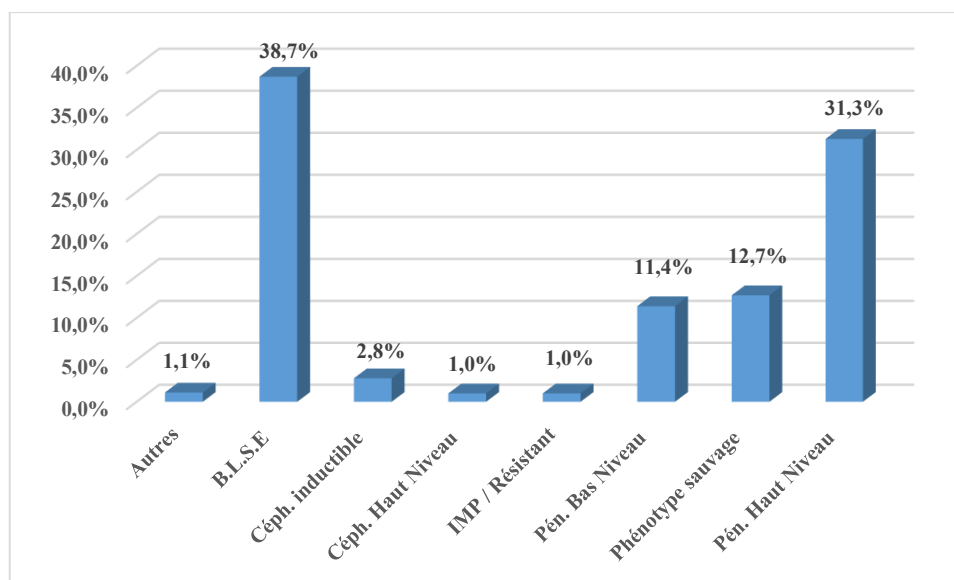


Figure 9 : Répartition des souches selon les phénotypes

8. Répartition des BLSE selon l'espèce d'entérobactérie

Nous avons recensé 459 espèces d'entérobactéries qui produisaient une bêta-lactamase à spectre élargi dont *Escherichia coli* était l'espèce la plus représentée avec 42,9% (n=197) suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec 25,7% (n=118) (Tableau VII).

Tableau VII : Répartition des BLSE selon l'espèce d'entérobactérie

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Escherichia coli</i>	197	42,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	118	25,7
<i>Enterobacter spp</i>	98	21,4
<i>Citrobacter spp</i>	23	5,0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	19	4,1
<i>Proteus mirabilis</i>	3	0,7
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,2
Total	459	100

9. Pourcentage de souche productrice de BLSE par espèce

Considérant le nombre de souches sécrétrices de BLSE par espèce d'entérobactérie, *Klebsiella pneumoniae* occupé le devant de la scène avec 47,7% suivi d'*Escherichia coli* avec 35,2%.

Tableau VIII : Pourcentage de souche productrice de BLSE par espèce d'entérobactérie

Espèces	Nombre de souches BLSE	Nombre total de souches	Pourcentage (%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	19	37	51,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	118	247	47,7
<i>Enterobacter spp</i>	98	226	43,3
<i>Citrobacter spp</i>	23	59	38,9
<i>Escherichia coli</i>	197	559	35,2
<i>Proteus mirabilis</i>	3	45	6,6
<i>Proteus vulgaris</i>	1	10	10
Total	459	1183	

10. Résistance à l'imipénème selon l'espèce d'entérobactérie

Au total, 12 espèces d'entérobactérie étaient résistantes à l'imipénème dont *Enterobacter spp* qui est l'espèce la plus représentée 50% (n=6) suivi de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Escherichia coli* avec pour chacune un pourcentage de 16,7 (n=2) (**Tableau IX**).

Tableau IX : Résistance à l'imipénème selon l'espèce d'entérobactérie

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Enterobacter</i>	50	50
<i>Escherichia coli</i>	2	16,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	16,7
<i>Citrobacter spp</i>	1	8,3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	8,3
Total	12	100

11. Profil de sensibilité des entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques

11.1. Aminosides

Les aminosides montraient une bonne efficacité avec l'Amikacine qui était la molécule la plus active avec 97,8% suivie de la Tobramycine avec 80%.

Les taux de résistance les plus élevés vis-à-vis des aminosides ont été obtenus avec la Gentamicine avec 33,4% et la Kanamycine 22,7%. (**Figure 10**).

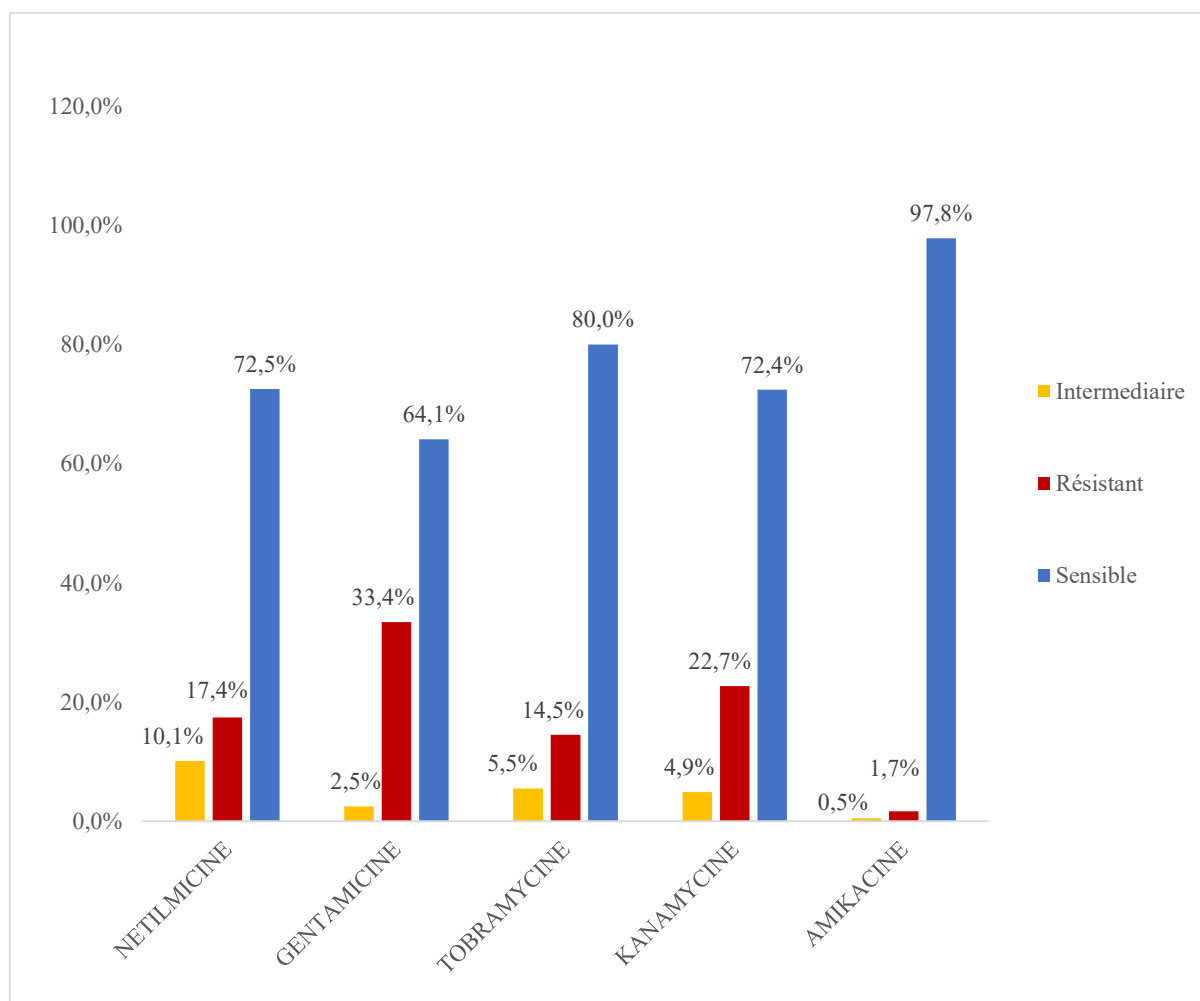


Figure 10 : Profil de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des aminosides

11.2. Quinolones

Les quinolones montraient une bonne activité avec la Lévofoxacine qui était active à 67,5% suivie de la Ciprofloxacine avec 59,9%.

Les taux de résistance les plus élevés aux quinolones ont été obtenus avec l'Acide Nalidixique (46,8%) et la Norfloxacine (46,1%) (**Figure 11**).

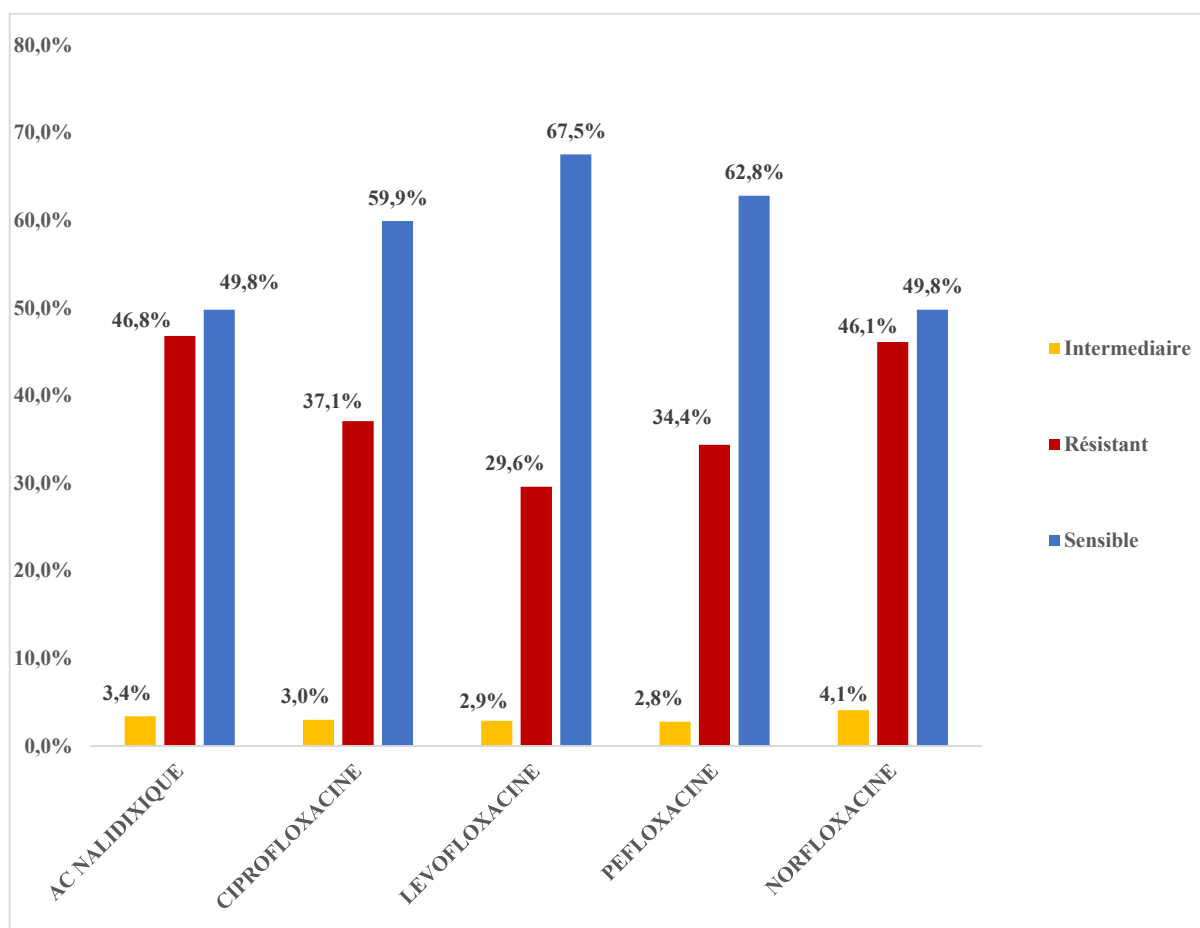


Figure 11 : Profil de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des quinolones

11.3. Autres antibiotiques

La colistine et le chloramphénicol restent des molécules actives avec respectivement 78,8% et 77,2% de taux de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis de ces deux antibiotiques. Par contre elles sont très résistantes au cotrimoxazole avec 63,9% de taux de résistance (**Figure 12**).

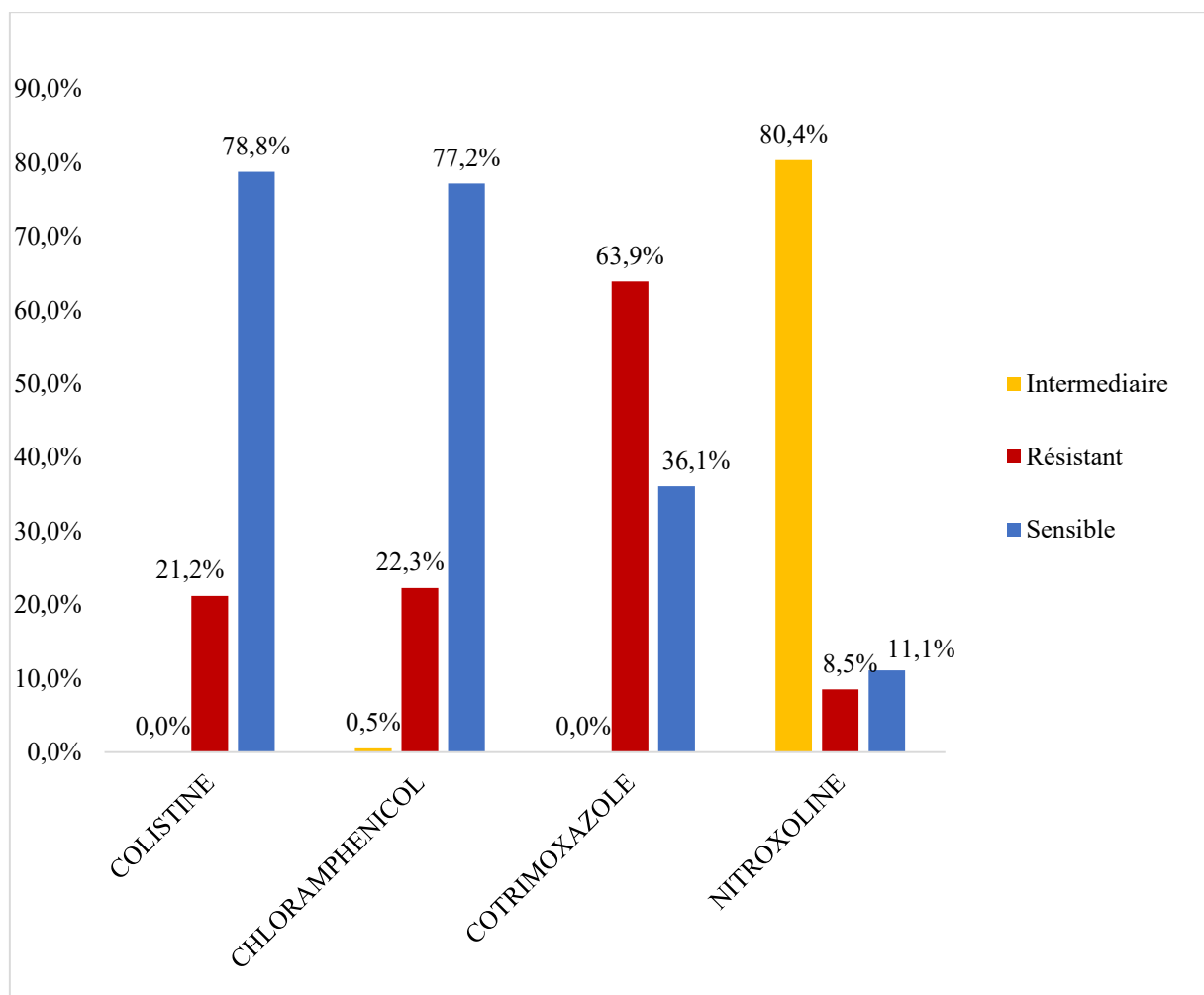


Figure 12 : Profil de sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des autres antibiotiques



DISCUSSION

Il s'agit d'une étude rétrospective de janvier 2015 à décembre 2016 portant sur l'étude de la prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi et/ou résistantes à l'imipénème au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU de FANN.

L'âge moyen des patients était de 45 ans avec des extrêmes de 1 et 98 ans. Le sexe masculin était plus représenté que le sexe féminin soit un sex ratio de 1,13. En 2015, une étude menée au CHU Aristide Le Dantec sur les profils phénotypiques de résistance aux carbapénèmes de souches productrices de bêtalactamases à Spectre Elargi avait trouvé que 2/3 de la population d'étude avait une tranche d'âge de 10 à 30 ans, les hommes étaient plus représentés que les femmes avec un sex ratio de 1,63 [59].

Dans notre étude les souches provenaient de divers types de produits pathologiques. La majorité était isolée des urines (56,2%), suivie des prélèvements de pus (22%). La même répartition a été retrouvée dans une autre étude faite dans un hôpital à Dakar avec 53% des souches isolées des urines et 20% de pus [59]. Cette distribution est habituelle dans un laboratoire de bactériologie car l'ECBU constitue l'examen le plus fréquemment demandé.

Sur 1185 souches d'entérobactéries isolées entre 2015 et 2016, nous avons retrouvés 38,7% (n=459) qui produisaient une BLSE, nos chiffres étaient supérieurs aux résultats de Tine et coll. au CHNU Aristide Le Dantec sur la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE entre 2011 et 2013 qui avaient retrouvé 1673 souches d'entérobactéries dont la prévalence de celles productrices de BLSE était de 24,3% [60].

Parmi les 459 entérobactéries productrices de BLSE, *Escherichia coli* était l'espèce la plus représentée avec 42,9% (n=197) suivi de *Klebsiella pneumoniae* avec 25,7% (n=118). Par contre en considérant le nombre de souches sécrétrices de BLSE par rapport au nombre total de l'espèce d'entérobactérie considérée, *Klebsiella pneumoniae* occupé le devant de la scène avec 47,7% (118/247) suivi d'*Escherichia coli* avec 35,2%, cette répartition était en phase avec celle de l'étude faite dans un hôpital à Dakar où 42% de *Klebsiella spp* étaient productrices de BLSE suivi d'*Escherichia coli* avec 34,9% [60].

La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE est plus élevée en milieu hospitalier avec 21,8% (n=258) qu'en milieu communautaire 16,9% (n=201). Néanmoins, cette prévalence chez les patients externes est non négligeable.

Jusqu'à la fin des années 1990, les entérobactéries productrices de BLSE étaient principalement des espèces dites « hospitalières », *Klebsiella pneumoniae* ou *Enterobacter spp*, productrices d'enzymes du type TEM et/ou SHV et diffusant de façon clonale entre patients hospitalisés. Depuis le début des années 2000, l'émergence et la dissémination explosive de « nouvelles »

BLSE (type CTX-M) sont observées au niveau mondial [3, 4]. Ces BLSE type CTX-M ont un mécanisme de diffusion plus complexe que ceux de type TEM ou SHV, mettant en jeu non seulement une diffusion clonale de bactéries mais aussi une diffusion des enzymes via les plasmides et/ou d'autres éléments génétiques mobiles [61].

La résistance croissante des bactéries aux antibiotiques est devenue un enjeu majeur de santé publique faisant craindre des situations épidémiques et endémiques et des impasses thérapeutiques [62,63]. Actuellement les espèces d'entérobactéries résistantes à l'imipénème inquiète de plus en plus les microbiologistes en général et les cliniciens en particulier car cette molécule est le dernier recours pour le traitement des infections à entérobactéries sécrétrices de BLSE. Dans notre échantillon 12 souches d'entérobactéries étaient résistantes à l'imipénème dont *Enterobacter spp* l'espèce la plus représentée 50% (n=6) suivi de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Escherichia coli* avec chacun 16,7% (n=2). L'émergence de la résistance aux carbapénèmes par production de carbapénémase représente une étape supplémentaire vers la pan-résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries [64,65]. Ce mécanisme fut largement décrit chez *Enterobacter spp*. La nouveauté résulte ici de l'identification de différentes carbapénémases, tout particulièrement chez *Klebsiella pneumoniae*.

Le profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases peut varier d'un pays à l'autre. En France, au niveau communautaire, la proportion d'infections à EBLSE est moins importante ; en 2006 la fréquence des entérobactéries isolées de prélèvements en communauté à visée diagnostique et productrices de BLSE était de 1,1 %. Parmi elles, 34 % étaient productrices de BLSE de type CTX-M-15 [66]. Cette proportion est en augmentation puisqu'en 1999, cette prévalence était estimée à 0,3 % [67].

Cette prévalence était estimée à 6,05% au Maroc en 2014 [68] où *Klebsiella pneumoniae* semblait être la souche productrice potentielle de carbapénémases, avec une prévalence de 16,40%, suivi d'*Enterobacter cloacae* avec 6,33%. La plupart de ces études ont trouvé une prévalence d'entérobactéries productrices de carbapénémases supérieure à nos résultats avec *Klebsiella pneumoniae* la souche en première ligne.

Toujours au Maroc en 2010, une étude sur la recherche de carbapénémases chez *Klebsiella pneumoniae*, avait trouvé 03 souches résistantes aux carbapénèmes sur 211 souches testées.

Dans les pays du Nord, l'évolution de la prévalence des EPC est régulièrement suivie. Ainsi en 2007, il y'avait que des cas sporadiques. En septembre 2008, un cas a été signalé, il s'agissait d'un transfert d'un patient portant *Klebsiella pneumoniae* (VIM-1) de la Grèce. Un autre cas a

été détecté en juin 2010 d'un autre patient en provenance du Pakistan infecté par *Escherichia coli* (NDM-1). Depuis 2010, on assiste à une émergence rapide d'espèces d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (I /R) et /ou productrices de carbapénémases [69].

Par ailleurs une étude menée en Turquie avait montré que la plupart des souches de *Klebsiella pneumoniae* produisant une carbapénémase exprimaient également des bêtalactamases de type Sulphydryl Variable (SHV), Cefotaximase-Munich (CTX-M) [70]. Dans notre étude la majorité des souches productrices de carbapénémases étaient isolées chez les patients alités au service des maladies infectieuses et tropicales. Ceci peut s'expliquer par la pression de sélection liée à l'usage intensif des antibiotiques dans les services d'infectiologie.

Dans notre étude les souches les plus résistantes vis-à-vis des aminosides l'étaient à la Gentamicine avec 33,4% et à la Kanamycine 22,7%. En ce qui concerne les entérobactéries sécrétrices de BLSE, 0,42% (n=5) étaient résistantes à l'ensemble des aminosides.

Ce profil est observé chez *Acinetobacter baumannii* par surproduction de la pompe à efflux AdeABC [71]. Tous les aminosides sont affectés, le niveau de résistance est modéré en particulier pour la Kanamycine. De la même manière la surproduction de la pompe d'efflux MexXY-OprM suite à des mutations affecte l'activité des aminosides, des fluoroquinolones et du céfépime [72].

Dans notre échantillon les quinolones montraient une bonne activité notamment avec les fluoroquinolones comme la Lévofoxacine active à 67,5% suivi de la Ciprofloxacine avec 59,9%.

Les souches les plus résistantes aux quinolones étaient résistantes à l'Acide Nalidixique avec 46,8% et à la Norfloxacine 46,1%. Dans notre étude 2,8% (n=33) des souches BLSE étaient résistantes à toutes les quinolones. La résistance de bas niveau aux fluoroquinolones peut être due à différents mécanismes (mutation unique dans GyrA, imperméabilité/efflux actif, résistance plasmidique), la résistance de haut niveau est toujours due à l'accumulation de plusieurs mutations dans les QRDR des topoisomérases de type II [49]. Globalement, la fréquence des déterminants de résistance de type Qnr reste faible dans les souches cliniques. Seulement 0,5 % des souches d'*Escherichia coli* résistantes à l'acide nalidixique isolées à l'hôpital de Bicêtre (K.-Bicêtre, France) en 2003 étaient *qnrA* - (+). La prévalence de ces déterminants de résistance est beaucoup plus élevée parmi les souches d'entérobactéries multirésistantes. Il existe une fréquente association entre les déterminants de type Qnr et les bêtalactamases à large spectre au sein de mêmes souches, ce qui souligne la possibilité d'une co-sélection de ces deux mécanismes de résistance plasmidiques. Des études récentes ont

montré que 4 % de souches isolées à Istanbul (Turquie) produisant une BLSE de type VEB-1 co-exprimaient QnrA [73] tandis que 48 % de souches thaïlandaises produisant la BLSE de type VEB étaient *qnrA1* - (+) [74]. QnrA fut détecté dans des souches produisant les BLSE CTX-M-1 [75], CTX-M-9 [76], CTX-M-15 [75], SHV-7 [76], SHV-5 [73], SHV-12 [77], et VEB-1 [73,74,78,79], la céphalosporinase plasmidique FOX-5 [76,80], et les carbapénémases plasmidiques OXA-48 [73] et IMP-8 [81].

La co-résistance des souches productrices de Qnr implique également les co-résistances fréquentes aux aminosides et aux fluoroquinolones comme l'indiquent deux enquêtes épidémiologiques récemment effectuées aux États-Unis [82] et au Vietnam [83].

Seules les méthodes moléculaires (PCR +/- séquençage ou hybridation sur puces à ADN) permettent, à l'heure actuelle, de caractériser de façon précise les enzymes hydrolysantes les antibiotiques (bêtalactamines, aminosides...) produites par les bactéries. Ces méthodes sont réalisées en routine dans certains laboratoires cliniques spécialisés, pour pallier aux problèmes de la détection phénotypique des micro-organismes producteurs de BLSE.



CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques en général et aux bêtalactamines en particulier posent un réel problème de santé publique. La production d'enzymes inactivant les bêtalactamines (BLSE) est le premier mécanisme de résistance chez les entérobactéries.

Concernant les bêtalactamines, la résistance aux carbapénèmes par production de carbapénémases notamment à l'imipénème est un problème majeur de santé publique. En effet, les infections à bactéries productrices de carbapénémases entraînent de véritables situations d'impasse thérapeutique [84,85]. Aujourd'hui, la prévalence de la résistance enzymatique aux carbapénèmes chez les entérobactéries reste encore faible. Au Sénégal, elle commence à apparaître bien que la disponibilité des carbapénèmes notamment de l'imipénème soit relativement récente.

Il convient évidemment de tout mettre en œuvre pour que cette situation reste la plus immuable possible. Pour cela, les stratégies de dépistage et de maîtrise de la diffusion doivent être appliquées rigoureusement. Il convient également de limiter au maximum la pression de sélection et donc de maîtriser la prescription des carbapénèmes, grâce à la rédaction et la mise en œuvre de recommandations d'une part, et à la présence de référents antibiotiques dans les hôpitaux, d'autre part [86]. Les carbapénèmes sont des molécules indispensables pour le traitement des infections à germes producteurs de BLSE, surtout dans le contexte actuel de diffusion massive des BLSE ; type CTX-M, donc ce sont des antibiotiques qu'il est nécessaire de préserver notamment pour lutter contre les entérobactéries sécrétrices de BLSE. Ce d'autant qu'il n'existe actuellement pas de perspective proche de mise sur le marché de nouveaux antibiotiques.

Les recommandations passent par une détection et une caractérisation des BLSE qui constitue un enjeu important en microbiologie puisqu'elle est très difficile avec les méthodes couramment utilisées en routine et demande donc une grande vigilance.

Les méthodes phénotypiques (antibiogramme, CMI etc...) peuvent permettre entre autre d'identifier les souches productrices de BLSE. La positivité de ces tests doit faire rechercher le gène codant pour ces BLSE par PCR. A cet effet, il est souhaitable que le laboratoire de microbiologie soit doté d'une unité de biologie moléculaire fonctionnelle, pour pallier aux problèmes de la détection phénotypique des souches productrices de BLSE, mais aussi maîtriser la diffusion clonale des gènes de résistances entre espèces bactériennes.

Il est également important de formuler des recommandations à l'endroit des cliniciens, des biologistes et du personnel soignant :

- Limiter l'antibiothérapie probabiliste dans le traitement des infections.
- Eviter l'usage abusif des antibiotiques et la mauvaise observance chez les patients.
- Identifier les bactéries multirésistantes, signaler et désinfecter les services où ces bactéries circulent
- Isoler les patients porteurs de BMR.
- Le lavage antiseptique (hygiénique) des mains après contact avec le patient porteur de BMR.
- Le port de gants à usage unique non stériles lors de tous les contacts particulièrement contaminants avec le patient porteur, et dans certains cas, avec son environnement immédiat. L'utilisation de gants ne dispense en aucun cas du lavage des mains après le contact.
- Le port de tablier lors de soins particulièrement contaminants ou exposant à un contact large avec le patient.
- L'utilisation de matériel de soins réservé à chaque patient porteur de BMR (matériel de toilette, tensiomètre, stéthoscope, petit matériel de soin...).
- La gestion rigoureuse des déchets qui doivent être gardés dans la chambre d'hospitalisation jusqu'à leur évacuation rapide selon la filière réglementaire habituelle.
- Le traitement adéquat (incinération) des excréta et déchets de patients infectés ou colonisés.

Enfin, l'émergence des entérobactéries productrices de BLSE constituent un problème de santé publique et imposent une surveillance épidémiologique. Le séquençage génomique des EBLSE permettra d'obtenir des indicateurs pertinents et adaptés pour la surveillance des souches circulantes.

PERSPECTIVES

Notre étude sur prévalence des entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases a permis d'avoir des résultats préliminaires. La confirmation des phénotypes de bêtalactamases par la biologie moléculaire en recherchant les gènes de résistance est nécessaire. Ces gènes sont portés souvent par des éléments génétiques mobiles comme les plasmides, les intégrons, les transposons ou les cassettes.

Ainsi, pour la suite, il faudra :

- Faire une étude multicentrique en incluant différentes structures et provenant de différentes régions ce qui pourra permettre d'évaluer davantage l'émergence de ces bêtalactamases.
- Poursuivre la caractérisation phénotypique en utilisant le disque d'ertapénème comme marqueur : En effet ce disque possède la meilleure sensibilité pour la détection des entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC).
- Etablir un profil épidémiologique grâce au génotypage permettant ainsi de voir les classes et types de bêtalactamases chez les entérobactéries isolées au laboratoire, à Dakar voire même au Sénégal.



REFERENCES

1. **Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al.** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983;11:315 - 7.
2. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18: 657 - 86.
3. **Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, et al.** CTX-M changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:165 - 74.
4. **Canton R, Coque TM.** The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:466 - 75.
5. **Denis F., Dabernath, Monteil H. Avril J. L.** Bactériologie clinique *Edition marketing*, Paris, 1998 ; 144-145.
6. **Le Minor L., Veron N.** Bactériologie Médicale Flam Med. Science, Paris, 1989 : 333-318 ; 773-823
7. **Edwards P.R., Ewing W.H.** Identification of the Enterobacteriaceae Ed Burgess, Minneapolis, 3rd ed, 1977 : 154 - 159.
8. **Niang O., et coll** Validation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires Thèse Pharm., Dakar 2003, n° 60.
9. **Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R.** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA, Paris, 1987 : 121-137 ; 146-155.
10. **Drame B., et coll** Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse Pharm., Dakar, 2001 ; n° 86.
11. **Bakhoun I., et coll** Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. *Thèse Pharm.*, 2004. n° 8.
12. **Bossert I. D., Young L.Y.** Anaerobic oxidation of paracresol by a denitrifying bacterium. *Applied and environmental Microbiology*, 1986, 52 (5) : 1117-1122.
13. **Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., Marchal N., Balbastre C.** Les entérobactéries Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne, Paris, 2e ed 1979 : 109-187

14. **Le Minor L, Veron M.** Bactériologie médicale. 2ème éd. Médecine Science Flammarion, Paris, 1990; 389-472.
15. **Avril J.L, Dabernat H, Denis F, Monteil H.** Bactériologie clinique, Ellipses, Paris, 2000, 2^{ème} édition : 171-77.
16. **Ambler RP.** The structure of beta-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1980;289:321 - 31.
17. **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211 - 33.
18. **Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, Paterson DL, et al.** Redefining extended-spectrum betalactamases: balancing science and clinical need. J Antimicrob Chemother 2009;63:1 - 4.
19. **Bradford PA.** Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-51
20. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005;18:657-86
21. **Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM.** Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect 2008;14:144-153
22. **Gniadkowski M.** Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. Clin Microbiol Infect 2008;14:11-32
23. **Bonnet R.** Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:1-14
24. **Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N.** CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother 2007;59:165-74
25. **Naas T, Poirel L, Nordmann P.** Minor extended-spectrum β -lactamases. Clin Microbiol Infect 2008;14:42-52

26. **Rossolini GM, D. Andrea MM, Mugnaioli C.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl. 1):33-41.
27. **Cantón R, Coque TM.** The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:466-75
28. **Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P.** Ambler class A extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosae*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2385-92
29. **Livermore DM.** Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:3-10
30. **Jaffe A, Chabbert YA, Semonin O.** - Role of porin proteins OmpF and OmpC in the permeation of beta-lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1982, 22, 942-948
31. **Piddock LJV, Wise R.** - Newer mechanisms of resistance to beta lactam antibiotics in Gram negative bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1985, 16, 279-284
32. **Curtis NAC, Eisenstadt RL, Turner KA, White AJ.** -- Porin-mediated cephalosporin resistance in *Escherichia coli* K-12~ *J. Antimicrob. Chemother.*, 1985, 15, 642-644
33. **Goldstein FW, Gutmann L, Williamson R, Collatz E, Acar JF.** - *In vivo* and *in vitro* emergence of simultaneous resistance to both betaractam and aminoglycoside antibiotics in a strain of *Serratia marcescens*. *Ann. Microbiol.*, 1983, 134, 329-337
34. **Gutmann L, Williamson R, Moreau N, Kitzis MD, Collatz E, Acar JF, Goldstein FW.** - Cross-resistance to nalidixic acid, trimethoprim, and chloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia*. *J. Infect. Dis.*, 1985, 151, 501-507
35. **Nikaido H, VAARA M.** - Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Rev.*, 1985, 49, 1-32
36. **Sanders CC, Sanders Jr. WE, Goering RV, Werner V.** - Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, beta lactams, and aminoglycosides with special reference to cross resistance between unrelated drug classes. *Antimicrob. Agents Chernether.*, 1984, 26, 797-801

37. **Sawai T, Hiruma R, Kawana N, Kaneko M, Taniyasu F, Inami A.** -- Outer membrane permeation of betalactam antibiotics in *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1982, 22, 585-592
38. **Malouin F, Bryan LE.** - Modification of penicillin binding- proteins as mechanisms of beta-lactam resistance. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 1986, 30, 1-5
39. **Parr JRTR, Bryan L.E.** -- Mechanism of resistance of an ampicillin-resistant, beta lactamase negative clinical isolate of *Haemophilus influenzae* Type b to beta lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemether.*, 1984, 2G, 747-753
40. **Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T.** Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCDOprJ and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 3322–3327.
41. **Nikaido H.** Antibiotic resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis* 1998;27(suppl1): 32S–41S.
42. **Veal WL, Nicholas RA, Shafer WM.** Overexpression of the MtrC-MtrD-MtrE efflux pump due to a mtrR mutation is required for chromosally mediated penicillin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Bacteriol* 2002;184:5619–5624.
43. **Mazzariol A, Cornaglia G, Nikaido H.** Contribution of the Amp-C b-lactamase and the AcrAB multidrug efflux system in intrinsic resistance of *E. coli* K12 to b-lactams. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1387–1390.
44. **Nikaido H, Basina M, Nguyen V, Rosenberg EY.** Multidrug efflux pumps AcrAB of *Salmonella typhimurium* excretes only those b-lactam antibiotics containing lipophilic side chains. *J Bacteriol* 1998;180:4686–4692.
45. **Collatz E, Gutmann L, Williamson R, Acar JF.** Development of resistance to beta-lactam antibiotics with special reference to third generation cephalosporins. *J. Antimicrob Chemother.*, 1984, 14, B, 13-21
46. **Spratt BG.** - Penicillin binding proteins and the future of beta lactam antibiotics. *J. Gen. Microbiol.*, 1983, 129, 1247-1260
47. **Godfrey AJ, Hatlelid LH, Bryan LE.** – Correlation between tipopolysaccharide structure and permeability resistance in beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1984, 26, 181-186

48. **Hooper DC.** Mode of action of fluoroquinolones. *Drugs* 1999;58 Suppl2:6-10.
49. **Ruiz J.** Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:1109-17.
50. **Vila J, Ruiz J, Marco F, et al.** Association between double mutation in *gyrA* gene of ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* and MICs. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2477-9.
51. **Vila J, Ruiz J, Goni P, De Anta MT.** Detection of mutations in *parC* in quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:491-3.
52. **Cattoir V, Lesprit P, Lascols C, et al.** *In vivo* selection during ofloxacin therapy of *Escherichia coli* with combined topoisomerase mutations that confer high resistance to ofloxacin but susceptibility to nalidixic acid. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:1054-7.
53. **Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA.** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351:797-9.
54. **Yamane K, Wachino J, Suzuki S, et al.** New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:3354-60.
55. **Yang S, Clayton SR, Zechiedrich EL.** Relative contributions of the AcrAB, MdfA and NorE efflux pumps to quinolone resistance in *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:545-56.
56. **Cattoir V, Nordmann P.** Plasmid-mediated quinolone resistance in gram negative bacterial species: an update. *Curr Med Chem* 2009;16:1028-46.
57. **Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, et al.** Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med* 2006;12:83 8.
58. **Perichon B, Courvalin P, Galimand M.** Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:2464-9.
59. **DIOUF O.K. et coll** Profils phénotypiques de résistance aux carbapénèmes de souches productrices de bêta-lactamases à Spectre Elargi. Thèse Pharma, Dakar 2015, no 08.

60. **Tine A. et coll** Prévalence des entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases à spectre étendu isolées au laboratoire de bactériologie du CHNU Aristide Le Dantec. Thèse Pharma, Dakar 2013, no 94.
61. **Canton R, Novais A, Valverde A, et al.** Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect 2008;14Suppl1: 144-53
62. **Levy SB, O'Brien TF.** Antimicrobial resistance alerts and implications. Clin Infect Dis 2005;41:S219–20.
63. American Society For Microbiology. Antibiotic resistance: an ecological perspective on an old problem; 2009.
64. **Livermore DM.** Has the era of untreatable infections arrived. J Antimicrob Chemother 2009;64(Suppl 1):i29–36.
65. **Nordmann P, Cuzon G, Naas T.** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing bacteria. Lancet Infect Dis 2009;9:228–36.
66. **Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V, et al.** Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. J Antimicrob Chemother 2009;63(6):1205–14.
67. **Quentin C, Arpin C, Dubois V, André C, Lagrange I, Fischer I, et al.** Antibiotic resistance rates and phenotypes among isolates of Enterobacteriaceae in French extra-hospital practice. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004;23(3):185–93.
68. **Akel Z. et coll.** Profils phénotypiques des entérobactéries productrices de carbapénèmases. Thèse Pharma, Rabat 2014, no 75.
69. **Jans B, Huang T-D D, Bogaerts P, Catry B, Glupczynski Y.** Carbapenemase producing Enterobacteriaceae in Belgium, Surveillance data institut scientifique de santé publique January 2012-June 2013.
70. **Nordmann P, Cuzon G, Naas T.** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis 2009;9:228-36.

71. **Magnet S, Courvalin P, Lambert T.** Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(12):3375-80.
72. **Hocquet D, Vogne C, El Garch F, et al.** MexXY-OprM efflux pump is necessary for adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(4):1371-5.
73. **Nazic H, Poirel L, Nordmann P.** Further identification of plasmid mediated quinolone resistance determinant in Enterobacteriaceae in Turkey. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 ; 49 : 2146-7.
74. **Poirel L, Van De Loo M, Mammeri H, et al.** Association of plasmid-mediated quinolone resistance with extended-spectrum β -lactamase VEB-1. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 ; 49 : 3091-4.
75. **Lavigne JP, Marchandin H, Delmas J, et al.** qnrA in CTX-M-Producing *Escherichia coli* Isolates from France. *Antimicrob Agents Chemother* 2006 ; 50 : 422-8.
76. **Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, et al.** Emerging plasmid mediated quinolone resistance associated with the qnr gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 ; 48 : 1295-99.
77. **Corkill JE, Anson JJ, Hart CA.** High prevalence of the plasmid mediated quinolone resistance determinant qnrA in multidrug resistant Enterobacteriaceae from blood cultures in Liverpool, UK. *J Antimicrob Chemother* 2005 ; 56 : 1115-7.
78. **Mammeri H, Van De Loo, Poirel L, et al.** Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:71-6.
79. **Poirel L, Pitout JD, Calvo L, et al.** In vivo selection of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolates expressing plasmid-mediated quinolone resistance and expanded spectrum β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2006 ; 50 : 1525-7.
80. **Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA.** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998 ; 351 : 797-9.
81. **Chu YW, Cheung TK, NG TK, et al.** Quinolone resistance determinant qnrA3 in clinical isolates of *Salmonella* in 2000-2005 in Hong Kong. *J Antimicrob Chemother* 2006 ; 58 :904-5.

82. **Robicsek A, Strahilevitz J, Sahm DF, et al.** qnr Prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2006 ; 50 : 2872-74.
83. **Schultsz C, Yen LM, Linh LD, et al.** High prevalence of qnrS and qnrA genes among Enterobacteriaceae on an ICU in Ho Chi Minh City, Viet Nam. 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy ; Washington, DC, USA ; Dec 16-19 2005. Abstract LB-22.
84. **Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, et al.** Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52: 1028—33.
85. **Laupland KB, Parkins MD, Church DL, et al.** Population-based epidemiological study of infections caused by carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region: importance of metallo-beta-lactamase (MBL)-producing strains. *J Infect Dis* 2005;192:1606-12.
86. **Lesprit P, Duong T, Girou E, et al.** Impact of a computer generated alert system prompting review of antibiotic use in hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2009;63: 1058-63.