

UNIVERSITE MOHAMMED V - SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT

ANNEE : 2013

THESE N° 22

« CARBAPENEMASES : NOUVELLES TECHNIQUES DE
DEPISTAGE ET RECOMMANDATIONS »

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.../.../.....

PAR

Mr. Rachidi Zakaria

Né le 08 Juillet 1988 à Oujda

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

Mots Clés : *Carbapénèmases, Carbapénèmes, Classification, Epidémiologie,
Recommandations, Entérobactérie, Résistance, Dépistage.*

MEMBRES DE JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de microbiologie

PRESIDENT

Mme. S. HAMZAOUI

Professeur de microbiologie

RAPPORTEUR

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. N. CHERKAOUI

Professeur agrégé de pharmacie galénique

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)

LISTE DES PROFESSEURS



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT
Conservateur : Dr.Ahmed ZAHIDI

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie

4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| 11. Pr. ABROUQ Ali* | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 12. Pr. BENOMAR M'hammed | Chirurgie-Cardio-Vasculaire |
| 13. Pr. BENSOUA Mohamed | Anatomie |
| 14. Pr. BENOSMAN Abdellatif | Chirurgie Thoracique |
| 15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma | Physiologie |

Novembre 1983

- | | |
|-----------------------------------|---------------------|
| 16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir* | Pneumo-phtisiologie |
| 17. Pr. BALAFREJ Amina | Pédiatrie |
| 18. Pr. BELLAKHDAR Fouad | Neurochirurgie |
| 19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia | Rhumatologie |
| 20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine | Cardiologie |

Décembre 1984

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------|
| 21. Pr. BOUCETTA Mohamed* | Neurochirurgie |
| 22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie |
| 23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz | Médecine Interne |
| 24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie -Réanimation |
| 25. Pr. NAJI M'Barek * | Immuno-Hématologie |
| 26. Pr. SETTAF Abdellatif | Chirurgie |

Novembre et Décembre 1985

- | | |
|---|---|
| 27. Pr. BENJELLOUN Halima | Cardiologie |
| 28. Pr. BENSAID Younes | Pathologie Chirurgicale |
| 29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa | Neurologie |
| 30. Pr. IHRAI Hssain * | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 31. Pr. IRAQI Ghali | Pneumo-phtisiologie |
| 32. Pr. KZADRI Mohamed | Oto-Rhino-laryngologie |

Janvier, Février et Décembre 1987

- | | |
|---|------------------------------|
| 33. Pr. AJANA Ali | Radiologie |
| 34. Pr. AMMAR Fanid | Pathologie Chirurgicale |
| 35. Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE | Gastro-Entérologie |
| 36. Pr. EL FASSY Fihri Mohamed Taoufiq | Pneumo-phtisiologie |
| 37. Pr. EL HAITEM Naïma | Cardiologie |
| 38. Pr. EL MANSOURI Abdellah* | Chimie-Toxicologie Expertise |
| 39. Pr. EL YAACOUBI Moradh | Traumatologie Orthopédie |
| 40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah | Gastro-Entérologie |
| 41. Pr. LACHKAR Hassan | Médecine Interne |
| 42. Pr. OHAYON Victor* | Médecine Interne |
| 43. Pr. YAHYAOUI Mohamed | Neurologie |

Décembre 1988

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 45. Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |
| 46. Pr. FAIK Mohamed | Urologie |
| 47. Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 48. Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 49. Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 50. Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 51. Pr. BENAMEUR Mohamed* | Radiologie |
| 52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 53. Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 54. Pr. CHKOFF Rachid | Urologie |
| 55. Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 56. Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 57. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |
| 58. Pr. SEDRATI Omar* | Dermatologie |
| 59. Pr. TAZI Saoud Anas | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

- | | |
|--|--|
| 60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia | Anatomie-Pathologique |
| 61. Pr. ATMANI Mohamed* | Anesthésie Réanimation |
| 62. Pr. AZZOUI Abderrahim | Anesthésie Réanimation |
| 63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM | Néphrologie |
| 64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad | Hématologie |
| 66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif | Chirurgie Générale |
| 67. Pr. BENSOUDA Yahia | Pharmacie galénique |
| 68. Pr. BERRAHO Amina | Ophthalmologie |
| 69. Pr. BEZZAD Rachid | Gynécologie Obstétrique |
| 70. Pr. CHABRAOUI Layachi | Biochimie et Chimie |
| 71. Pr. CHANA El Houssaine* | Ophthalmologie |
| 72. Pr. CHERRAH Yahia | Pharmacologie |
| 73. Pr. CHOKAIRI Omar | Histologie Embryologie |
| 74. Pr. FAJRI Ahmed* | Psychiatrie |
| 75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed* | Chirurgie Générale |
| 76. Pr. KHATTAB Mohamed | Pédiatrie |
| 77. Pr. NEJMI Maati | Anesthésie-Réanimation |
| 78. Pr. OUAALINE Mohammed* | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH | Pharmacologie |
| 80. Pr. TAOUFIK Jamal | Chimie thérapeutique |

Décembre 1992

81. Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
82. Pr. BENOUDA Amina	Microbiologie
83. Pr. BENSOUA Adil	Anesthésie Réanimation
84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
85. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
86. Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
87. Pr. DAOUDI Rajae	Ophtalmologie
88. Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
89. Pr. EL HADDOURY Mohamed	Anesthésie Réanimation
90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
91. Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie
92. Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
93. Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
94. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
95. Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
96. Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

97. Pr. AGNAOU Lahcen	Ophtalmologie
98. Pr. AL BAROUDI Saad	Chirurgie Générale
99. Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
100. Pr. BENJAAFAR Nouredine	Radiothérapie
101. Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
102. Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
103. Pr. CAOUI Malika	Biophysique
104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique
106. Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumatologie-Orthopédie
108. Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
110. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*	Chirurgie Cardio- Vasculaire
111. Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
112. Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
113. Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
114. Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
115. Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
116. Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
117. Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique
118. Pr. MAHFOUD Mustapha	Traumatologie – Orthopédie
119. Pr. MOUDENE Ahmed*	Traumatologie- Orthopédie
120. Pr. OULBACHA Said	Chirurgie Générale
121. Pr. RHRAB Brahim	Gynécologie –Obstétrique
122. Pr. SENOUCI Karimaép. BELKHADIR	Dermatologie

123. Pr. SLAOUI Anas

Chirurgie Cardio-vasculaire

Mars 1994

124. Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
125. Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
126. Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
127. Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
128. Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie
129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
131. Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
132. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae	Ophtalmologie
133. Pr. EL ABBADI Najia	Neurochirurgie
134. Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
135. Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
136. Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
137. Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

Mars 1995

138. Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
139. Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
140. Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
141. Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
142. Pr. BEDDOUCHE Amocrane*	Urologie
143. Pr. BENAZZOZ Mustapha	Gastro-Entérologie
144. Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
145. Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
146. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*	Anesthésie Réanimation
147. Pr. EL MESNAOUI Abbes	Chirurgie Générale
148. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
149. Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
150. Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
151. Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
152. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
153. Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
154. Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
155. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
156. Pr. RZIN Abdelkader*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
157. Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
158. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

Décembre 1996

159. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
160. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
161. Pr. BELMAHI Amin	Chirurgie réparatrice et plastique
162. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
163. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale

164. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
165. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
166. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
167. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
168. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
169. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
170. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
171. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
172. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

173. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
174. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
175. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
176. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
177. Pr. BOULAICH Mohamed	O.RL.
178. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
179. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
180. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
181. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
182. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
183. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
184. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
185. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
186. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
187. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
188. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
189. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
190. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
191. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
192. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

193. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
194. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
195. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
196. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
197. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
198. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
199. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
200. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
201. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

202. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
203. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
204. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

205. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
206. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
207. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
208. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
209. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
210. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
211. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
212. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
213. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
214. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
215. Pr. EL OTMANYAzzedine	Chirurgie Générale
216. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
217. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
218. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
219. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
220. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
221. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
222. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
223. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

224. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
225. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
226. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
227. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
228. Pr. BENCHEKROUN Nabih	Ophtalmologie
229. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
230. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	² Anesthésie-Réanimation
231. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
232. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
233. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
234. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
235. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
236. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
237. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
238. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
239. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
240. Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
241. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
242. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
243. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

244. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
245. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie

246. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
247. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophthalmologie
248. Pr. BENABDELJILIL Maria	Neurologie
249. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
250. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
251. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
252. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
253. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
254. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
255. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
256. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
257. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
258. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
259. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
260. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
261. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
262. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
263. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
264. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
265. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
266. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
267. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
268. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophthalmologie
269. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
270. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
271. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
272. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
273. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
274. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
275. Pr. KABBAB Saad	Anesthésie-Réanimation
276. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
277. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
278. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
279. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
280. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
281. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
282. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
283. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
284. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
285. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
286. Pr. SABBAB Farid	Chirurgie Générale
287. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
288. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
289. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

Décembre 2002

290. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
291. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie

292. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
293. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
294. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
295. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
296. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
297. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
298. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
299. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
300. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
301. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
302. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
303. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
304. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
305. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
306. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
307. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
308. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
309. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
310. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
311. Pr. HAJJI Zakia	Ophthalmologie
312. Pr. IKEN Ali	Urologie
313. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
314. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
315. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
316. Pr. LAGHMARI Mina	Ophthalmologie
317. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
318. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
319. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
320. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
321. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
322. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
323. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
324. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
325. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
326. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
327. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
328. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
329. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale
330. Pr. ZRARA Ibtisam*	Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

331. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophthalmologie
332. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
333. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
334. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
335. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
336. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation

337. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
338. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
339. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
340. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
341. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
342. Pr. EL HANCI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
343. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
344. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
345. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
346. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
347. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
348. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
349. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
350. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
351. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
352. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
353. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
354. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
355. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
356. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
357. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

Janvier 2005

358. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
359. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
360. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
361. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
362. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
363. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
364. Pr. AZIZ Noureddine*	Radiologie
365. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
366. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
367. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
368. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
369. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
370. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
371. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
372. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
373. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
374. Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
375. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
376. Pr. HESSISEN Leila	Pédiatrie
377. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
378. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
379. Pr. KENDOUSI Mohamed*	Cardiologie
380. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
381. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
382. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie

383. Pr. RAGALA Abdelhak
 384. Pr. SBIHI Souad
 385. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam
 386. Pr. ZERAIDI Najja

Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 424. Pr. AFIFI Yasser
 425. Pr. AKJOUJ Said*
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 428. Pr. BENCHEIKH Razika
 429. Pr. BIYI Abdelhamid*
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
 Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation

461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra *
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 466. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 473. Pr. GHARIB Noureddine
 474. Pr. TABERKANET Mustafa *
 475. Pr. ISMAILI Nadia
 476. Pr. MASRAR Azlarab
 477. Pr. RABHI Monsef *
 478. Pr. MRABET Mustapha *
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
 480. Pr. SEFFAR Myriame
 481. Pr. LOUZI Lhoussain *
 482. Pr. MRANI Saad *
 483. Pr. GANA Rachid
 484. Pr. ICHOU Mohamed *
 485. Pr. TACHFOUTI Samira
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 487. Pr. MELLAL Zakaria
 488. Pr. AMMAR Haddou *
 489. Pr. AOUI Sarra
 490. Pr. TLIGUI Houssain
 491. Pr. MOUTAJ Redouane *
 492. Pr. ACHACHI Leila
 493. Pr. MARC Karima
 494. Pr. BENZIANE Hamid *
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual *
 496. Pr. EL OMARI Fatima
 497. Pr. MAHI Mohamed *
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib*
 499. Pr. KEBDANI Tayeb
 500. Pr. SIFAT Hassan *
 501. Pr. HADADI Khalid *
 502. Pr. ABIDI Khalid
 503. Pr. MADANI Naoufel
 504. Pr. TANANE Mansour *
 505. Pr. AMHAJJI Larbi *

Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Dermatologie
 Hématologie biologique
 Médecine interne
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Virologie
 Neuro chirurgie
 Oncologie médicale
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 ORL
 Parasitologie
 Parasitologie
 Parasitologie
 Parasitologie
 Pneumo phtisiologie
 Pneumo phtisiologie
 Pharmacie clinique
 Pharmacie galénique
 Psychiatrie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Réanimation médicale
 Réanimation médicale
 Traumatologie orthopédie
 Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes

Anatomie

Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAÏN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim*	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali *	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie

Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. BOUSSIF Mohamed*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. RAISSOUNI Zakaria*
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. ZOUAIDIA Fouad
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. CHADLI Mariama*

Pédiatrie
 Médecine aérologique
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie
 Anatomie pathologique
 Anatomie pathologique
 Physiologie
 Biochimie chimie
 Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen
13. Pr. ETTAIB Abdelkader
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine
17. Pr. KABBAJ Ouafae
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine
19. Pr. REDHA Ahlam
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
21. Pr. TOUATI Driss
22. Pr. ZAHIDI Ahmed
23. Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
 Biochimie
 Pharmacologie
 Histologie-Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Applications Pharmaceutiques
 Génétique Humaine
 Microbiologie
 Biochimie
 Physiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie
 Pharmacologie
 Chimie Organique

 Biochimie
 Biologie
 Biochimie
 Chimie Organique
 Pharmacognosie
 Pharmacologie
 Chimie Organique

*** Enseignants Militaires**

DÉDICACES



*A ma chère mère
El Yakoubi Khadija*

*Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier à sa juste valeur
l'être qui a consacré sa vie à parfaire notre éducation avec
un dévouement inégal associé à beaucoup de sacrifice.*

*Votre calme, votre patience dont j'ai hérité une modeste partie
ont été pour moi le phare pour l'aboutissement de ce travail.*

*Puisse Dieu m'aider pour rendre un peu soit-il
de ce que vous m'avez donné !
Puisse Dieu vous garder longtemps auprès de nous
et vous bénir infiniment !*

*A mon cher père
Rachidi Mohamed*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime,
le respect et l'amour que je vous porte.*

*Vous vous êtes investi à me transmettre le sens de la responsabilité,
de la persévérance et de la droiture.*

*Vous nous avez inculqué le sens du sacrifice afin de construire
notre réussite.*

Que ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma gratitude.

*Que Dieu le tout puissant puisse vous bénir, vous accorder une longue vie
pleine de bonheur et de satisfaction*





À mon cher frère et ma chère sœur

Rachidi Ahmed , Rachidi Sanae

Les mots ne sauraient exprimer l'étendu de mon affection et de ma gratitude.

*Je vous dédie ce travail et vous exhorte au resserrement des liens de la famille dans l'amour,
le respect et le courage.*

Que notre Seigneur vous accorde réussite, bonheur, santé et prospérité

À mes grands-mères et tantes

*Vous avez été toujours présents pour les bons conseils
Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie
professionnelle et personnelle
Voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance.*

Puisse Dieu vous accorder santé et prospérité

Aux Familles Rachidi et El Yakoubi

*Je ne saurais vous remercier pour tout le soutien que vous m'avez accordé,
vous avez toujours été présent pour moi.*

*Que ce travail soit témoignage de ma profonde affection, de ma reconnaissance pour votre
soutien durant toutes ces années d'études.*

Puisse Dieu vous accorder santé et prospérité





A mes cousins

Hajjoubi Mohamed, Kerchaoui Najia Radouane et Hichame

*Je souhaiterais vous remercier et vous dédier ce travail.
Peu importe la distance, je vous garde au fond de mon cœur.*

*Voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance.
Puisse Dieu vous garder toujours auprès de moi
dans le bonheur et la prospérité*

A mes amis et confrères

*Khadër, Mohamed, Ayoub, Redouane, Abderrahman, Hind,, Mohamed Amine, Sofiane,
Fadoua, Redouane...*

*Du Début à la fin vous avez été présent. Vous m'avez accueillie avec sincérité, et j'ai eu le
privilege de trouver une deuxième famille à vos côtés.*

*Voici le reflet de l'amitié, de la bonne entente, et
de l'aboutissement de tous vos efforts pour faire de moi ce que je suis.*

*Ce travail vous ait dédié avec toute ma reconnaissance
et mon amitié sincère.*

*Que le Tout Puissant, notre Dieu, vous comble de joie,
de longévité, de santé*





À l'ensemble des étudiants du monde qui tendent vers l'excellence et qui représentent la génération de demain.

À tous les professeurs auprès de qui j'ai eu l'honneur d'apprendre.

À tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

À tous ceux qui me sont chers.

À toutes les personnes non citées et qui savent que je pense à eux.

À tous les musulmans.



REMERCIEMENTS



A notre maître et président de thèse

Monsieur ZOUHDI Mimoun

*Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en
acceptant la présidence de mon jury de thèse.*

*Vous nous avez accueillis avec beaucoup de gentillesse et d'égard.
Votre compétence, vos qualités humaines et surtout
la clarté et la simplicité de votre enseignement ont suscité en nous une
profonde admiration.*

*Permettez-moi de vous remercier pour l'accueil chaleureux que vous
m'avez réservé durant mon stage de quatrième année au sein du
Laboratoire de Microbiologie Avicenne.*

*Veillez accepter, cher maître, l'assurance de mon estime et de mon
profond respect.*



A notre maître et directeur de thèse

Madame HAMZAoui Sakina

*Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Je vous suis infiniment reconnaissant pour votre investissement dans ce travail
et pour la confiance que
vous m'avez témoigné en me permettant de traiter ce sujet de thèse.*

*Votre amabilité, votre sérieux, votre compétence, votre pragmatisme et surtout
vos qualités humaines m'ont beaucoup marquée.*

*Vous m'avez toujours réservé un bon accueil
malgré vos obligations professionnelles.*

*Je suis très heureux de pouvoir exprimer ma profonde gratitude pour tous les
efforts que vous avez déployés
afin que ce travail puisse aboutir.*

*Veillez recevoir, cher maître, l'expression
de ma profonde considération.*





*A notre maître et membre du jury
Madame TELLAL Saida*

*Professeur de Biochimie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Vous avez accepté avec gentillesse de juger notre travail et c'est pour
nous un honneur de vous avoir dans notre jury.*

*Veillez recevoir l'expression de ma reconnaissance et de mon respect
les plus profonds.*





A notre Maître et membre du jury

Madame Cherkaoui Naoual

*Professeur agrégé de Pharmacie Galénique
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que vous nous faites en
acceptant de siéger parmi les membres de jury de cette thèse.*

*Permettez-nous de vous témoigner toute notre admiration
pour votre accueil sympathique.*

*Nous vous prions d'accepter l'expression de notre respect et notre
sincère reconnaissance.*



TABLE DES
ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Squelette de base des carbapénèmes.

Figure 2 : Structure des carbapénèmes.

Figure 3 : Classification d'ambler des carbapénémases.

Figure 4: Annotation partielle de la pleine longueur de 24,3 kb du plasmide portant *bla* KPC-2 associé à Tn 4401 de *K. pneumoniae*.

Figure 5 : Carte circulaire du plasmide PNDM-BJ01 chez *Acinetobacter*.

Figure 6 : Représentation schématique de l'environnement génétique du *bla* OXA-48 gène. Transposon Tn 1999.2.

Figure 7: Les structures cristallines de la carbapénémase, KPC-2 (Protein Data Bank [APB] identifiant 2OV5), présente dans le périplasma, *P. aeruginosa* porine, OPRD (liaison au substrat boucles surlignées en jaune) (identifiant APB 2ODJ) présente dans la membrane externe, *P. aeruginosa*, les composants de la pompe d'efflux MEXA, *mexB*, et *OprM* (APB identificateurs 1VF7, 2V50, et 3D5K), couvrant la membrane interne et externe et les membranes périplasmiques, et *P. aeruginosa* PBP3 (APB identificateur 3PBN), ancrée à la membrane intérieure.

Figure 8 : (A) Mécanisme d'hydrolyse des carbapénèmes par CphA. (B) sites actifs des sous-catégories B1 et B3 métallo- β -lactamases. (C) stabilisation de l'intermédiaire anionique GOB-18.

Figure 9 : Distribution dans le monde géographique de *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase (KPC)

Figure 10 : Répartition géographique de Véronne intégron-métallo- β codée-lactamase (VIM) et les producteurs IMP entérobactéries. Dans le monde entier (A) et européen (B).

FIGURE 11 : Répartition géographique des New Delhi métallo- β -lactamase-1 les producteurs (EID, le 15 juillet 2011).

Figure 12 : Carte de NDM-1-échantillons positif de New Delhi centre et les régions avoisinantes avril 2011

Figure 13 : Répartition géographique des oxacillinase-48 (OXA-48) Type producteurs.

Figure 14 : Test de Hodge modifié pour la détection des carbapénèmases.

Figure 15 : Etest MBL (Imipenem vs Imipenem/EDTA) *K. pneumoniae* VIM-1

Figure 16 : Mise en évidence d'une carbapénémase chez *Pseudomonas aeruginosa* par disques KPC/MBL[®] (Disques ROSCO, distribués par Eurobio),

Figure 17 : Différents milieux gélosés avec inhibiteurs.

Figure 18 : Test Brilliance CRE[®] Thermo Fisher scientifique, Royaume-Uni.

Figure 19 : ChromID[®] CARBA (réf. 43861 à 20 plaques de 90 mm) bioMérieux.

Figure 20 : Carba np test Pr Nordmann

Figure 21 : Schéma simplifié des étapes de la réalisation d'un test biobus ADN pour la détection des carbapénèmases

Figure 22 : Focalisation isoélectrique

Figure 23 : Principes de la spectrométrie de masse Maldi-Tof.

Figure 24 : Chaîne d'identification par *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight* (MALDI-TOF) à partir de colonie, d'échantillon d'hémocultures ou d'urines positives à la coloration de Gram.

Figure 25 : Test beta-lacta[®] (Bio-Rad)

Figure 26 : Stratégie pour l'identification des producteurs carbapénèmases.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Différents cas où l'antibiothérapie nécessite l'utilisation des carbapénèmes *selon sanford guide to antimicrobial therapy*.

Tableau 2 : Classification fonctionnelle des carbapénémases.

Tableau 3 : Sous-groupes des carbapénémases D de la famille des oxacilline β – lactamases.

Tableau 4 : Phénotypes de résistance aux β -lactamines et profil d'inhibition chez les entérobactéries productrices de carbapénémases.

Tableau 5 : Principales carbapénémases acquises chez les bactéries à Gram négatif.

Tableau 6 : Seuils des points d'arrêt (CMI, mg / L) préconisés par les standards français, européen et américain pour l'interprétation de la sensibilité des souches productrices de carbapénémase aux carbapénèmes.

Tableau 7 : Sensibilité et spécificité des SUPERCARBA, Brilliance CRE et CHROMagar KPC médias. La sensibilité a été déterminée pour chaque classe d'Amber carbapénémase.

Tableau 8 : Amorces de PCR pour la détection de β -lactamases.

Tableau 9 : Quand et comment utiliser ces tests.

Tableau 10 : Antibiothérapie des patients infectés par des bactéries productrices de carbapénémases.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

BGN : Bactéries a Gram negative.

BLSE : β -lactamase à spectre étendu .

C3G : céphalosporine de 3^{ème} génération.

Carba NP : Carbapenemase Nordmann-Poirel.

CA-SFM : Conseil d'Administration de la société française de microbiologie.

CCPMI : Comité consultative provincial des maladies infectieuses

CCPMI : Comité consultative provincial des maladies infectieuses

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique.

EUCAST : European committee on antimicrobial susceptibility testing.

GES : Guyane à spectre étendu.

IDSA : Infectious Diseases Society of America

IMI : Imipénème hydrolyse β -lactamase.

IMP : Imipénémase .

KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase.

Maldi-Tof: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation time-of-flight mass spectrometry.

MBL : Métallo- β -lactamases.

MHT : Test de Hodge Modifié.

NDM : New Delhi métallo-bêta-lactamase.

NMC : Carbapénèmase non métalloenzymatique

NMC-A : Not Métallo-enzyme Carbapénèmase

OXA : oxacillinases

PBP : penicillin-binding-proteins

PCR : Polymerase Chain Reaction

S/R : Sensible/Resistant

SME : Serratia Marcescens Enzyme

SME : Serratia marcescens

VIM : Vêrone intégron codé métallo- β -lactamase

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.....	1
Chapitre I: Rappel sur Les Carbapénèmes.....	4
I. Généralités/Historique [1] :	5
II. Classification des carbapénèmes :.....	7
III. Mécanisme d'action [□] :.....	8
IV. Spectre d'action :.....	8
V. Utilisation des carbapénèmes :	9
Chapitre II: Carbapénèmases	11
I. Définition:	12
II. Origine des carbapénèmases:.....	13
III. Classification:	14
1. Classification fonctionnelle:.....	14
2. Classification moléculaire:	17
IV. Support moléculaire des gènes carbapénèmases :	19
1. Enzymes moléculaires de la Classe A:.....	19
1.1 Enzymes codées chromosomiques:.....	19

1.2	Enzymes codés Plasmidique:	20
2.	Enzymes moléculaires de la Classe B :	23
3.	Enzymes moléculaires de la classe D:	25
V.	Profil de résistance et d'inhibition des souches productrice de carbapénèmase :	26
VI.	Transmissions des gènes Carbapénèmases :	28
1.	Transmission interbactérienne:	28
2.	Transmission nosocomiale :	29
VII.	Mécanismes de résistances :	31
1.	Résistance aux carbapénèmes.....	31
2.	Mécanisme de résistance : Structure/fonction et considérations parmi les carbapénèmases :	34
VIII.	Situation épidémiologique des carbapénèmases :	43
1.	Carbapénèmases de Classe A :	45
1.1	KPC :	46
1.2	GES (pour la Guyane à spectre étendu):	48
1.3	SME (<i>Serratia marcescens</i>) / IMI (pour l'imipénème hydrolyse β -lactamase) / NMC (pour carbapénèmase non métalloenzymatique):	49
2.	Carbapénèmases de Classe B métallo- β -lactamases :	50

3.	Carbapénèmases de classe D (oxacillinases) :.....	58
IX.	Dépistage des carbapénèmases :.....	60
1.	Méthodes phénotypiques :.....	60
1.1	Etude de la sensibilité aux carbapénèmes : antibiogramme CMI	62
1.2	Milieux chromogènes	74
1.3	Carba NP test	79
2.	Méthodes moléculaires :	82
3.	Méthodes enzymatiques :	95
X.	Schéma général pour le dépistage et la confirmation des carbapénèmases au laboratoire :.....	101
1.	Personnes ciblées :	101
2.	Quel site de prélèvement :	102
3.	Tests:.....	103
XI.	Recommandations pour la prévention des éclosions d'entérobactéries productrices de carbapénèmases et leurs prises en charge :.....	108
1.	Mesures standard :.....	110
1.1	Intra-installation de communication :.....	110
1.2	Formation et Éducation :	112
1.3	Hygiène personnelle du staff :.....	113

1.4	Nettoyage et désinfection de l'environnement :	114
1.5	Recommandation pour le laboratoire :	115
1.6	Mesures de contrôle des EPC importées :.....	116
1.7	Dépistage précoce des entérobactéries productrices de carbapénèmases :	117
1.8	Mesures d'isolement strictes :.....	120
1.9	Ergothérapie et physiothérapie du patient :	123
1.10	Visiteurs du patient :.....	125
1.11	Interruption des précautions de contact/Durée des précautions supplémentaires.....	126
2.	Rationalisation de la consommation des antibiotiques et de leur prescription :	127
XII.	Traitement des infections dues aux producteurs carbapénèmases :	129
	Conclusion	131

INTRODUCTION

Les carbapénèmases sont des β -lactamases ayant une activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes associés ou non à l'inactivation d'antibiotiques appartenant à la famille des β -lactames. L'émergence de ces enzymes est décrite de façon croissante dans le monde entier et constitue un réel problème pour la santé publique, car ils sont fréquemment impliqués dans les infections tant communautaires, qu'acquises dans les milieux de soins ainsi le fait que les carbapénèmes représentant très souvent les dernières molécules actives de l'arsenal thérapeutique pour combattre les bactéries multi résistantes. De plus, l'identification des gènes de résistance de ces bactéries sur des plasmides est également une source d'inquiétude puisque cette caractéristique facilite la transmission de cette résistance à d'autres espèces bactériennes.

Les carbapénèmases se développent rarement, mais les bactéries qui les portent se propagent facilement. Les classes spécifiques de carbapénèmases se retrouvent habituellement le plus couramment dans la zone géographique où elles sont apparues, mais se propagent dans le monde entier, généralement lorsque des patients reçoivent des soins dans un autre pays, mais depuis le signalement des premiers cas de colonisation ou d'infection par des souches de carbapénèmases en 2008 (VIM-1 : Vérone intégron codé métallo- β -lactamase) et en 2010 (NDM-1: New Delhi Métallo-bêta-Lactames), un nombre croissant bactéries productrices de carbapénèmases ont été répertoriées. La majorité des patients affectés n'avaient pas séjourné dans des pays décrits comme étant à risque élevé pour

l'acquisition de carbapénèmases, ce qui montre que ces germes ultras résistants circulent maintenant de façon endémique dans les hôpitaux [1] [2].

Seule l'étude de l'épidémiologie et du mode de transmission et de détection précoce des souches productrices de carbapénèmases permet la mise en place rapide de mesures adéquates de prévention et de contrôle afin de limiter leurs introductions et transmission dans les milieux de soins.

Ce travail vise à :

- présenter les différents carbapénèmases, leur classification, épidémiologie et les possibilités thérapeutiques encore efficaces en ce moment,
- démontrer l'évolution de la résistance des carbapénèmases dues à leurs mécanismes de résistances diverses et complexes et la nature de leur patrimoine génétique,
- Décrire les différentes techniques de dépistage les plus récentes utiliser dans les laboratoires cliniques ou de références et démontrer leur rôle dans la prévention des éclosions des carbapénèmases dans les milieux de soins.
- Exposer une synthèse des recommandations et mesures de prévention et contrôle à appliquer pour prévenir l'introduction et la propagation des souches productrices de carbapénèmases dans les milieux de soins.

CHAPITRE I: RAPPEL SUR LES CARBAPENEMES

I. Généralités/Historique: [1] [6]

Les Carbapénèmes (Figure 1). Sont des bêta-lactamines obtenus à partir de *Streptomyces cattleya* possédant un très large spectre antibactérien associé à une grande stabilité envers la quasi-totalité des bêta-lactamases. Elles sont historiquement considérées comme les médicaments de choix pour le traitement des infections graves causées par des *bactéries* produisant des spectres étendus de bêta-lactamases (BLSE) ou utilisées en dernier recours, lorsque d'autres antibiotiques n'ont pas fonctionné. Toutes les carbapénèmes sont administrées par injection, à l'exception du tébipénem qui existe sous forme de comprimés.

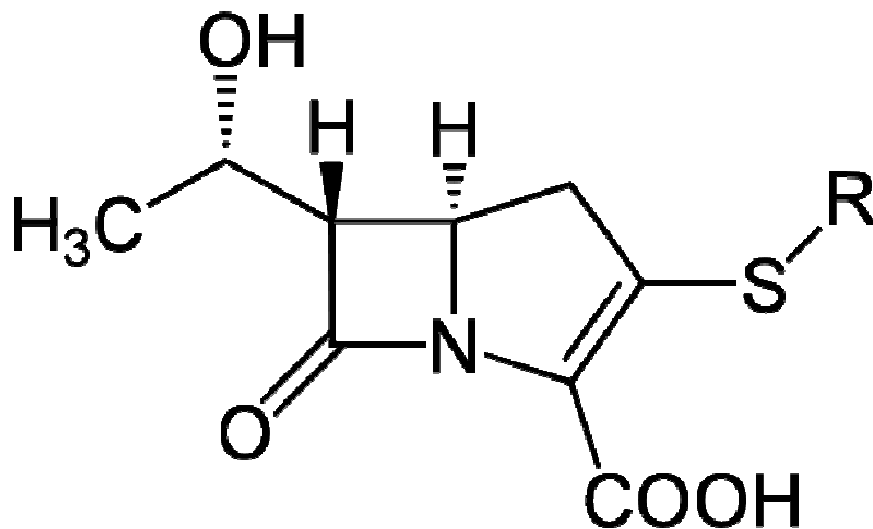


Figure 1. Squelette de base des carbapénèmes

Quatre molécules sont commercialisées : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème (Figure 2).

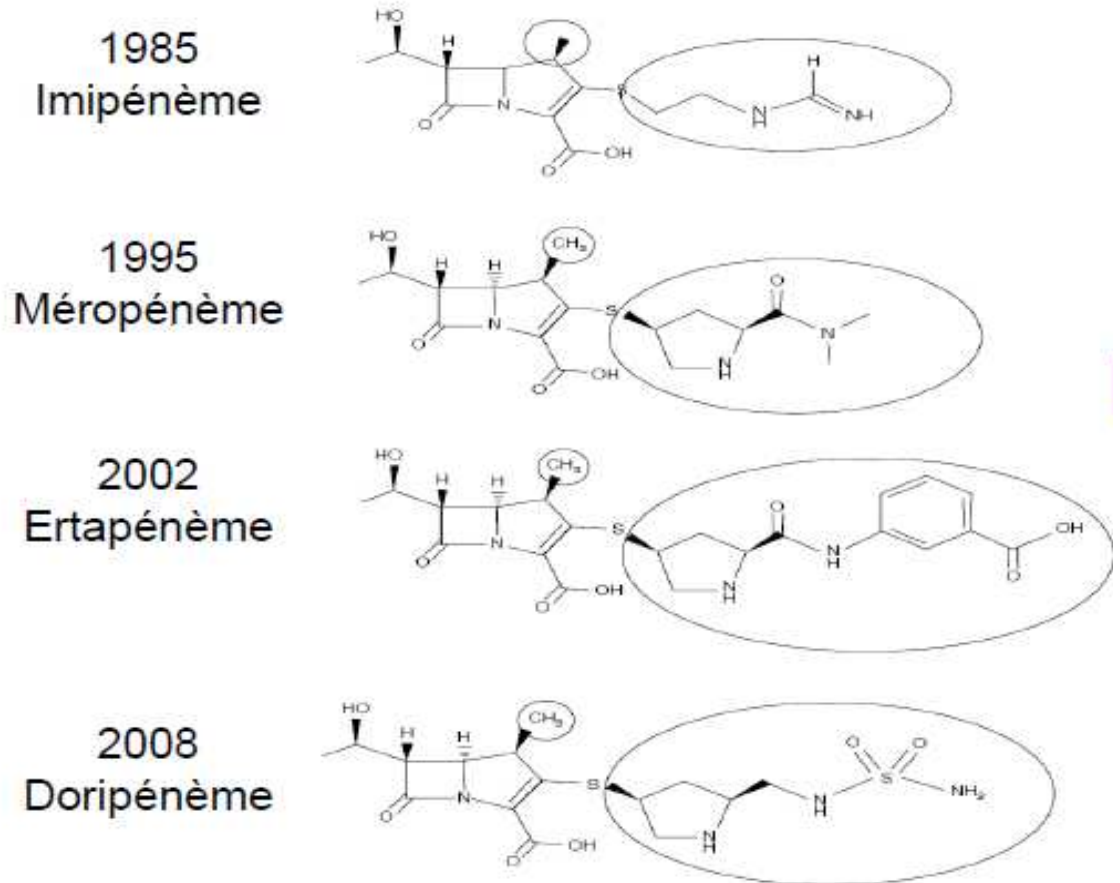


Figure 2. Structure des carbapénèmes [6]

C'est en 1976 que fut découverte la thiénamycine, produite par *Streptomyces cattleya*. La molécule était instable, ce qui conduisit au développement, dans les années 1980, d'un dérivé N-forminidoyle semi-

synthétique, l'imipénème. En raison d'une dégradation rapide *in vivo* par la déhydropeptidase rénale humaine (DHP-1), l'imipénème doit être co-administré avec un inhibiteur de cette enzyme, la cilastatine.

L'imipénème possède un quasi-monopole au sein de cette famille en France, alors que le méropénème, apparu environ dix ans plus tard, est largement utilisé dans d'autres pays d'Europe et en Amérique du Nord. Le début des années 2000 a vu l'apparition de nouvelles carbapénèmes : l'ertapénème et le doripénème.

II. Classification des carbapénèmes : [5] [6]

Certains auteurs ont proposé une classification des différentes carbapénèmes :

Le Groupe 1 comprend des molécules à large spectre avec une efficacité limitée sur les bacilles à Gram négatif non fermentant (ertapénème essentiellement).

Le Groupe 2 comprend les molécules ayant une bonne efficacité sur les bacilles à Gram négatif non fermentant (imipénème, méropénème, doripénème).

Un troisième groupe comprend notamment le composé PZ-601, une carbapénème en cours de développement avec une activité anti-Gram positif, notamment le *staphylocoque* résistant à la méthicilline.

III. Mécanisme d'action: [5] [6]

Les carbapénèmes agissent en liant les peptidases bactériennes, les penicillin binding proteins (PBP) et plus spécifiquement la PBP-2 et la PBP-3, des bacilles Gram négatifs. Ces PBP sont des peptidoglycanes responsables du maintien de la paroi cellulaire. En court-circuitant ce mécanisme, on entraîne un défaut de la paroi cellulaire ; s'ensuit une lyse bactérienne.

IV. Spectre d'action : [5] [6]

Les carbapénèmes sont actives sur les bactéries à Gram positif, sauf les staphylocoques résistants à la méticilline et *Enterococcus faecium* résistant à l'ampicilline.

Les entérobactéries sont très sensibles aux carbapénèmes, y compris les souches productrices de BLSE et les souches productrices de céphalosporinase à haut niveau. L'imipénème, le doripénème et le méropénème ont une activité comparable sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

Stenotrophomonas maltophilia et certains isolats de *Clostridium difficile* sont résistants aux carbapénèmes. Initialement, seuls les bacilles à Gram négatif producteur de métallobêta-lactamases, de carbapénémases de la classe A d'Amber ou présentant une imperméabilité à l'imipénème pouvaient être résistants aux carbapénèmes. Actuellement, l'émergence de bêta-lactamases de classe D possédant un spectre étendu aux carbapénèmes remet en question l'efficacité de ces molécules en clinique. Les carbapénémases de classe D ont surtout été décrites chez *Acinetobacter baumannii*.

V. Utilisation des carbapénèmes : [5] [6]

En général, la prescription des carbapénèmes doit être envisagée au dernier recours pour le traitement des infections bactériennes, le tableau (tableau I) ci-dessous énumère les différents cas où l'antibiothérapie nécessite l'utilisation des carbapénèmes

Tableau 1 : Différents cas où l'antibiothérapie nécessite l'utilisation des carbapenemes selon sanford guide to antimicrobial therapy.

<p style="text-align: center;">Syndromes cliniques</p>	<p style="text-align: center;">Selon le germe (infection sévères)</p>
<ul style="list-style-type: none"> - Infection nosocomiale sévères (pneumonie, sinusite sur une intubation nasotrachéale). - Sepsis d'origine inconnu. - Infection intra abdominales sévères. - Méningites bactériennes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Acinetobacterspp. - Pseudomonas aeruginosa. - Alcaligenes spp <p>Enterobacteries :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Enterobacter spp - Serratia spp - Citrobacter spp - Proteus spp - Escherichia coli ou klebsiella spp avec ESBL ou AmpC.

Chapitre II: Carbapénèmases

I. Définition:

L'usage des antibiotiques de la famille des carbapénèmes s'est répandu au cours des dernières années, notamment pour le traitement d'infections causées par des bactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération. Tout comme d'autres bactéries, une résistance aux antibiotiques utilisés a été développée. Dans le cas présent, elles ont développé une résistance aux carbapénèmes conférée par la production d'une carbapénémase. Certains chercheurs ont préféré la nomenclature "enzymes hydrolysant les carbapénèmes" à l'expression "carbapénèmases", suggérant que les carbapénèmes sont qu'un segment de leur spectre substrat. Cependant, le terme carbapénémase s'est retranché dans la littérature β -lactamase et est utilisé tout au long de cette étude.

Actuellement, ces enzymes à capacités hydrolytiques polyvalentes constituent un groupe hétérogène d'enzymes, définies sur la base d'un spectre enzymatique (hydrolyse d'au moins un carbapénème disponible) et non sur une base structurale. Dans presque tous les cas, elles hydrolysent non seulement les agents antimicrobiens de la classe des carbapénèmes, mais aussi les pénicillines (p. ex. pipéracilline/tazobactam) et les céphalosporines de première, de deuxième et de troisième génération. Les plus fréquentes sont : KPC (classe A d'Ambller), VIM, IMP, NDM (classe B), OXA-48 et OXA-23 (classe D). Ces enzymes sont retrouvées dans une grande variété d'espèces

bactériennes (Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*).

II. Origine des carbapénèmases:^[46]

La conception des antibiotiques Carbapénèmes a été inspirée par la thiénamycine produit naturel, produit par le sol organisme *Streptomyces cattleya*. En fait, les carbapénèmes et les acides olivanic ont été parmi les plus puissants β -lactamines d'origine naturelle identifiées à partir de diverses sources naturelles dans les premiers programmes de dépistage de produits. En raison de la prévalence de ces molécules dans le sol, il est logique de s'attendre à ce que les enzymes capables de dégrader ces β -lactames serait produit par des organismes environnementaux tels que *Bacillus cereus* et *Bacillus anthracis*, les bactéries caractérisés métallo- β -lactamases qui donnerait un avantage sélectif pour la croissance de ces espèces environnementales. Ces carbapénèmases chromosomiques peuvent avoir évolué d'abord chez les bactéries comme un mécanisme de protection à leur paroi cellulaire contre des menaces extérieures et peuvent également jouer un rôle dans la régulation de la synthèse de la paroi cellulaire.

III. Classification:

Dans les premiers travaux de β -lactamases, avant que les gènes aient été clonés et séquencés régulièrement, la méthode de classification de l'enzyme bêta-lactamase impliquée l'analyse biochimique de l'enzyme, la détermination du point isoélectrique, la détermination de l'hydrolyse du substrat, la cinétique enzymatique et les profils d'inhibition. Actuellement la Classification des β -lactamases peut être définie en fonction de deux propriétés : fonctionnelles et moléculaires. Il existe plusieurs classes de carbapénèmases. Chaque classe est désignée par un acronyme de trois lettres, p. ex. KPC = *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase; NDM = New Delhi métallo- β -lactamases.

1. Classification fonctionnelle: [7] [8] [11]

Ce processus de classification fonctionnelle a évolué pendant de nombreuses années depuis la classification de Karen Bush en 1988 dans un régime largement accepté et divise actuellement les β -lactamases les plus connus en quatre grands groupes fonctionnels (groupes 1 à 4), avec plusieurs sous-groupes du groupe 2 qui sont différenciés selon le groupe spécifique substrat ou un inhibiteur de profils. Dans ce système de classification

fonctionnelle, les carbapénèmases se trouvent principalement dans les groupes fonctionnels 2f, 3 et 2d (tableau 2).

Tableau 2. Classification fonctionnelle des carbapénèmases. ^[8]

GROUPES FONCTIONNELS	TYPE D'ENZYME
2f	NMC
	IMI
	SME
	KPC
	GES
3	IMP
	VIM
	GIM
	SPM
	NDM
2d	OXA

Actuellement, il y a 239 Enzymes d'OXA : oxacillines, dont au moins 9 sont des BLSE et au moins 37 sont des carbapénèmases. Ces derniers sont classés comme des sous-groupes 2df dans la classification fonctionnelle (Tableau 3).

Tableau 3 : Sous-groupes des carbapénèmases D de la famille des oxacilline β -lactamases. ^[8]

Groupe	Sous-famille d'enzyme	Membre (s) d'OXA Supplémentaires
1	OXA-23	OXA-27, OXA-49
2	OXA-24	OXA-25, OXA-26, OXA-40, OXA-72
3	OXA-51	OXA-64 to OXA-71, 75-78, 83, 84, 86-89, 91, 92, 94, 95
4	OXA-58	-
5	OXA-55	OXA-SHE
6	OXA-48	OXA-54, OXA-SAR2
7	OXA-50	OXA-50a- OXA-50d
8	OXA-60	OXA-60a - OXA-60d
9	OXA-62	-

2. Classification moléculaire:^{[8] [11] [46]}

Ambler et d'autres ont classé les bêta-lactamases en fonction des séquences d'acides aminés en quatre groupes (A à D).

La classe A (pénicillinases de type sérine protéases, inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam) ;

La classe B (métallo-enzymes, dont le site actif contient un ion zinc, résistantes à l'acide clavulanique, mais inhibées par l'EDTA);

La classe C (céphalosporinases insensibles à l'acide clavulanique, mais inhibées par la cloxacilline)

Et **la classe D** (oxacillinases hydrolysant la cloxacilline et peu inhibées par l'acide clavulanique).

Dans ce système de classification moléculaire, les carbapénèmases sont réparties dans les classes A, B et D (Figure 3). Bien que cette classification soit bien corrélée avec le schéma fonctionnel, il manque dans les détails concernant l'activité enzymatique du bêta-lactamase.

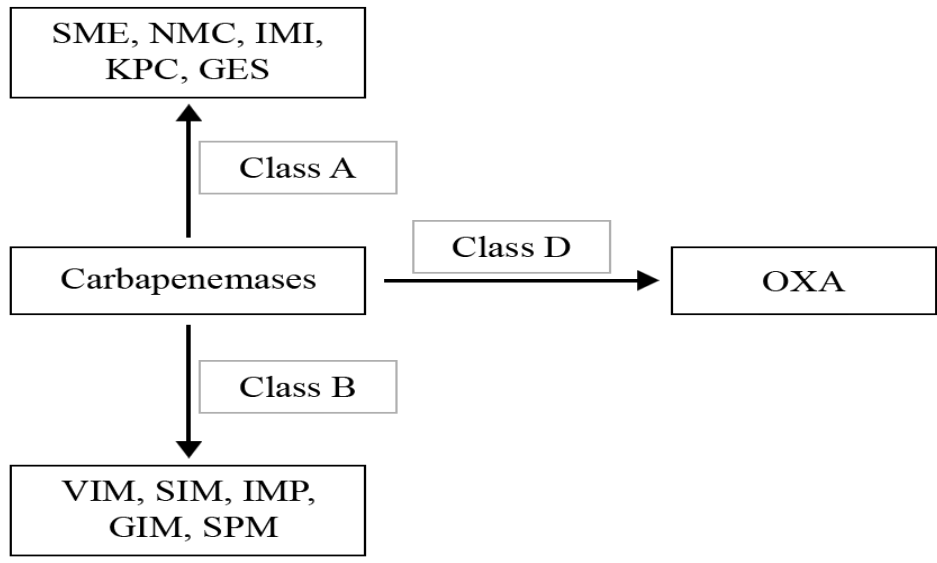


Figure 3. Classification d'ambler des carbapénèmases. ^[11]

IV. Support moléculaire des gènes

carbapénèmases :

Les vecteurs de la diffusion des carbapénèmases peuvent être soit les souches, soit les gènes eux-mêmes. En effet, la plupart des gènes codant pour ces enzymes ont été isolés sur des chromosomes ou sur des structures génétiques mobiles (transposons, plasmides) et/ou de type intégrons, leur conférant un important pouvoir de dissémination.

1. Enzymes moléculaires de la Classe A: ^[9] ^[10]

Au début les gènes de carbapénèmases classe A étaient considérés chromosomique (SME, IMI, NMC), mais récemment des carbapénèmases à gènes plasmidiques (KPC, GES) sont à la hausse.

1.1 Enzymes codées chromosomiques:

- i. SME (Serratia marcescens enzyme)
- ii. IMI (pour l'imipénème hydrolyse β -lactamase).
- ii. NMC (pour carbapénèmase non-métalloenzyme).

1.2 Enzymes codés Plasmidique:

1.2.1 KPC (pour *Klebsiella pneumonia* carbapénèmase): [9] [19] [87]

Les gènes *bla*KPC ont été retrouvés sur une grande variété de plasmides, mais toujours associés à un transposon de type Tn3, Tn4401, dont trois isoformes ont été caractérisées. Ce transposon, décrit dans de nombreuses souches d'origines géographiques très diverses, est probablement associé à la dissémination de cette enzyme à travers le monde. Les plasmides portent également le plus souvent d'autres gènes de résistance, notamment aux aminosides, aux fluoroquinolones (gènes *qnr*) et/ou à d'autres b-lactamines (CTX-M15, DHA-1, par exemple), entraînant une multi résistance de ces souches et offrant la possibilité de cotransfert de gènes de résistance à d'autres antibiotiques.

La structure génétique encadrant *bla*_{KPC-2} a récemment été détaillée et a permis de caractériser un nouveau transposon de type Tn3, Tn4401, long de 10 kb. Ce transposon possède également deux séquences d'insertion (IS) nommées *ISKpn6* et *ISKpn7*, respectivement, situées immédiatement en aval et en amont de *bla*_{KPC-2}. Tn4401 a été décrit dans des souches d'origine

géographique diverse . Cependant, trois isoformes ont pu être caractérisées ; elles diffèrent par une délétion de 100 ou 200 pb en amont du gène *bla*_{KPC-2} . Deux structures ont récemment été partiellement décrites et possèdent d'autres IS en amont du gène *bla*_{KPC-2} ; cependant, dans les deux cas, la séquence en aval du gène *bla*_{KPC} correspond bien au transposon Tn4401, suggérant que ces nouvelles IS se sont insérées dans Tn4401.

Une étude a identifié une région génétique complexe encadrant le gène *bla*_{KPC-3}. Le transposon Tn4401 s'est dans ce cas inséré dans un autre transposon Tn1331 au niveau duquel un gène *qnrB19*, mobilisé par la séquence d'insertion *ISEcp1*, s'est également intégré, l'ensemble étant porté par le plasmide pLRM24. Tn1331 possède également plusieurs gènes de résistance aux aminosides ainsi que d'autres gènes de β -lactamase. Cette structure génétique offre la possibilité d'un Co transfert de résistance aux β -lactamines, aux aminosides et aux fluoroquinolones entre souches.

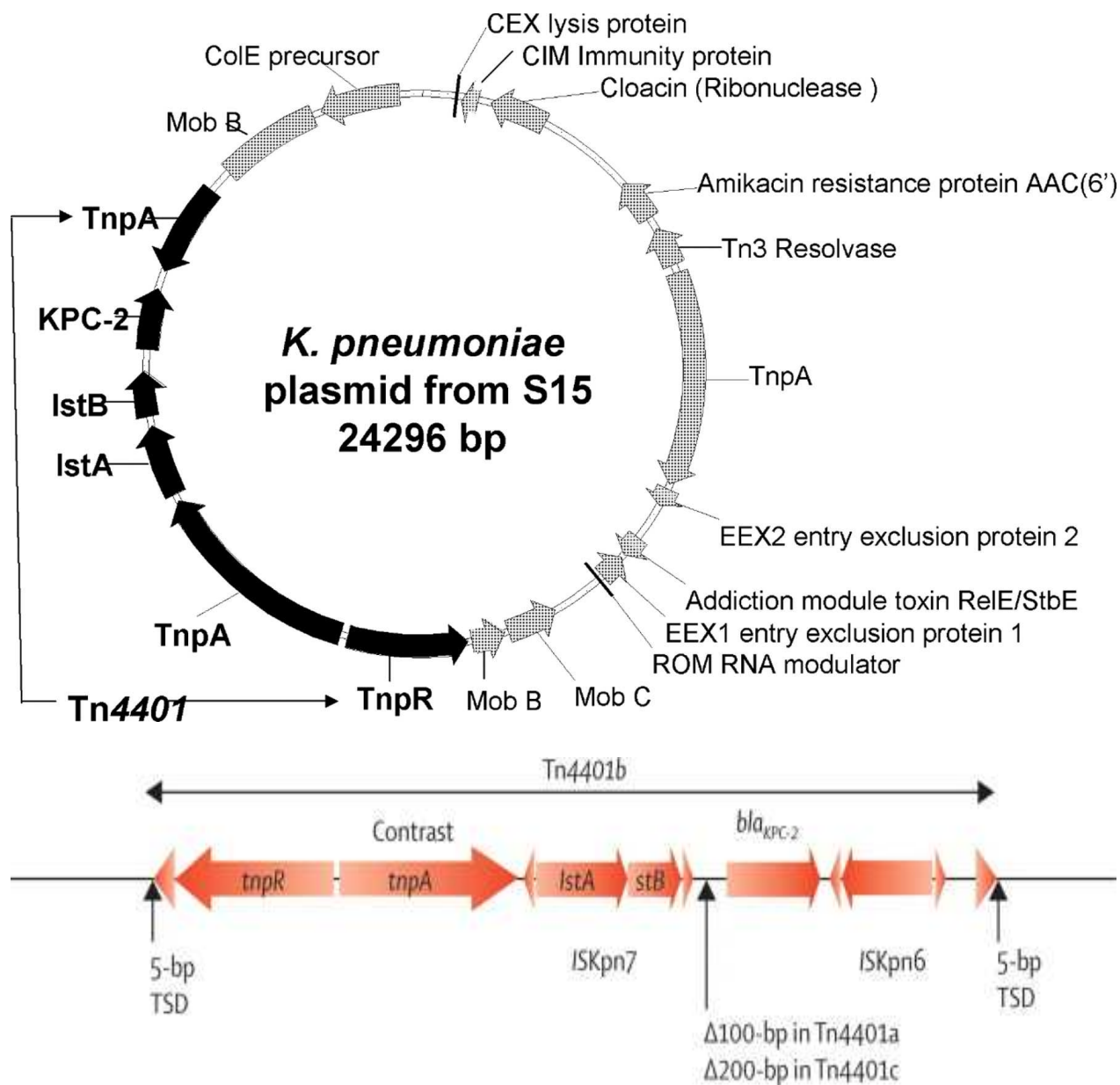


Figure 4: Annotation partielle de la pleine longueur de 24,3 kb du plasmide portant *bla* KPC-2 associé à Tn 4401 de *K. pneumoniae*. [94]

1.2.2 GES (pour la Guyane à spectre étendu):

Les gènes codant pour des enzymes de la famille GES sont situés dans les intégrons sur des plasmides. Dans un *Escherichia coli* isoler, le gène GES (bla GES-7) est situé au niveau chromosome, et il est le seul gène des blaGES qui n'a pas été identifié sur un intégron. En raison de leur capacité d'hydrolyse prolongée sur les céphalosporines à large spectre, ils ont d'abord été considérés comme des Beta-Lactamases à Spectre étendu.

2. Enzymes moléculaires de la Classe B : ^[10]

Les gènes des métallob- β -lactamases de type VIM (Vérone intégron codé métallob- β -lactamase) ou IMP (Imipénème hydrolyse β -lactamase)peuvent présenter des localisations plasmidiques ou chromosomiques. Ils sont habituellement décrits sous forme de gènes cassettes au sein d'intégrons de classe 1, ou plus rarement de classe 3. L'association de ces intégrons à des structures mobiles de type plasmide ou transposon permet la mobilité de ces gènes de résistance. La présence d'autres gènes cassettes associés au sein de l'intégron, comme des gènes de résistances aux aminosides ou à d'autres β -lactamines (OXA-30) confèrent à ces souches un important degré de multi résistance.

Le gène blaNDM-1 a été retrouvé sur une grande variété de plasmides, mais également inséré sur le chromosome bactérien dans quelques cas . Le plus souvent, ce gène se trouve sur un plasmide transférable et enclin aux

réarrangements, faisant craindre un fort potentiel de transmission et d'adaptation.

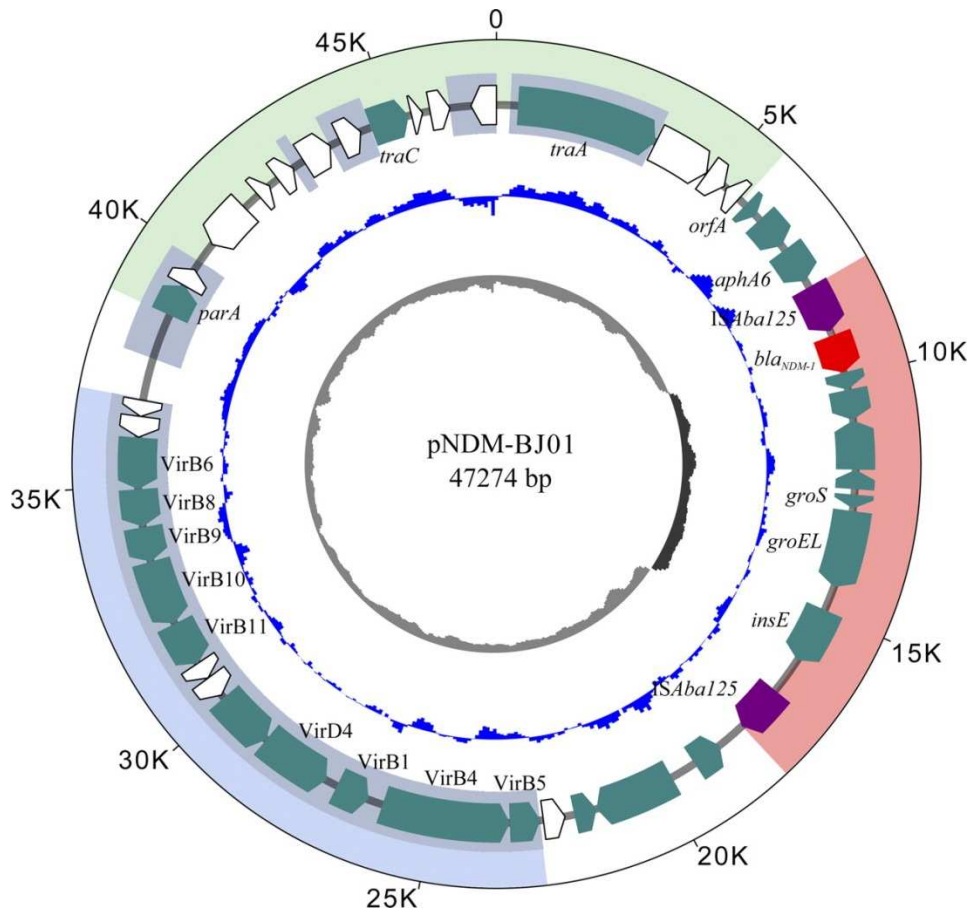


FIGURE 5 : Carte circulaire du plasmide PNDM-BJ01 chez *Acinetobacter*. Le *bla* NDM-1 gène et l'élément d'insertion *ISAbal25* sont colorés de rouge et de pourpre, respectivement. ^[93]

3. Enzymes moléculaires de la classe D: ^[10]

Parmi les gènes de carbapénémases de type OXA (oxacillinasés), seuls les gènes blaOXA-23, blaOXA-40 et blaOXA-58 chez *Acinetobacter Baumannii* et blaOXA-48 chez les entérobactéries sont de support plasmidique et présentent un important potentiel de dissémination. Le gène codant pour OXA-48 est situé sur un transposon et encadré par deux séquences d'insertion identiques jouant un rôle dans la mobilité et l'expression du gène. Le gène OXA-23, chez *A. baumannii*, a été décrit sur plusieurs types de transposons (Tn 2006, Tn2007 et Tn2008) localisés au sein du chromosome ou sur différents plasmides, démontrant la grande diversité des voies de dissémination de l'enzyme.

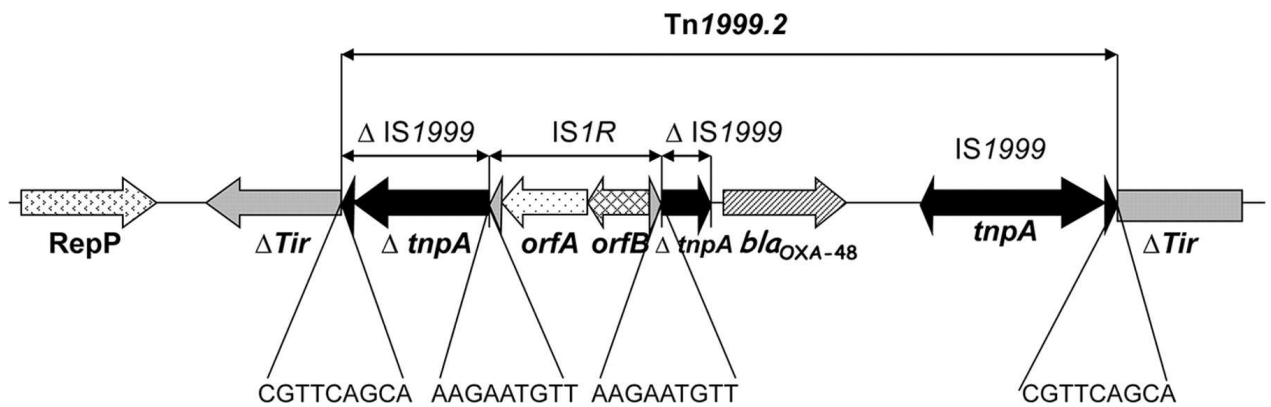


Figure 6. Représentation schématique de l'environnement génétique du bla_{OXA-48} gène. Transposon Tn 1999.2. ^[92]

V. Profil de résistance et d'inhibition des souches productrices de carbapénèmase :

[9][28]

Le tableau ci-dessous résume les différents profils de résistance et d'inhibition des souches productrices de carbapénèmase Tableau I

Tableau 4 : Phénotypes de résistance aux β -lactamines et profil d'inhibition chez les entérobactéries productrices de carbapénémases. [8]

Molecular class	Functional group	Enzyme Type	Hydrolysis profile					Inhibition profile	
			Penicillin	Early cephalosporin	Extended spectrum cephalosporin	Aztreonam	Carbapenems	EDTA	Clavulanic acid
A	2f	NMC	+	+	+	+	+	-	+
		IMI	+	+	+	+	+	-	+
		SME	+	+	±	+	+	-	+
		KPC	+	+	+	+	+	-	+
		GES	+	+	+	-	±	-	+
B	3	IMP	+	+	+	-	+	+	-
		VIM	+	+	+	-	+	+	-
		GIM	+	+	+	-	+	+	-
		SPM	+	+	+	-	+	+	-
		NDM	+	+	+	±	+	+	-
D	2d	OXA	+	+	±	-	±	-	±

+ Résistance ; - Inhibition

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

N.B : les souches de type KPC importées de Grèce (ST 258) restent souvent sensibles à la gentamicine.

Les métallob- β lactamases (MBL : IMP, VIM et NDM) hydrolysent toutes les β lactamines sauf l'aztréonam et leur activité n'est pas affectée par aucun des inhibiteurs qui sont en usage clinique, mais ils peuvent être inhibées *in vitro par* des composés tels que chélateurs de zinc (EDTA par exemple).

NB : une résistance à l'aztréonam est cependant observée en cas d'association d'un autre type de β -Lactamase (p.ex.: une BLSE, une céphalosporinase AmpC). Des mécanismes de résistance associés multiples sont souvent présents.

Les enzymes OXA-48 hydrolysent l'aminopénicillines, l'uréidopénicillines et les carbapénèmes à des niveaux faibles et présentent typiquement une résistance de haut niveau à la témocilline (pas de zone d'inhibition par diffusion en disque, CMI > 256 mg/L), mais n'hydrolyse pas sensiblement les céphalosporines à large spectre. Leur activité n'est pas affectée par les inhibiteurs utilisés en clinique, mais ils sont inhibés par NaCl *in vitro*.

VI. Transmissions des gènes Carbapénèmases :

1. Transmission interbactérienne: [2] [9] [46] [59] [87] [88] [89]

De nouvelles carbapénèmases découvertes dans des isolats cliniques sont maintenant retrouvées dans les bactéries de l'environnement. Le carbapénémase VIM-2 par exemple a été trouvé dans une souche *Pseudomonas pseudoalcaligenes* à partir d'un système d'eaux usées d'un hôpital; l'examen plus approfondi a trouvé deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* porteuses de ce gène. Dans une autre étude intéressante, un bactériophage porteur de gènes β -lactamase de type OXA a été isolé dans les eaux usées, ce qui suggère un autre vecteur pour le transfert de ces gènes entre organismes. Même s'il n'est pas difficile d'imaginer que les carbapénèmases peuvent trouver leur chemin dans le système d'égouts, la découverte de l'IMI-2 carbapénèmases sur des plasmides dans de rares isolats d'*Enterobacter asburiae* provenant de rivières d'États-Unis est plus difficile à expliquer, bien que l'emplacement de l'échantillonnage par rapport aux centres de population n'a pas été rapporté. Il est probable que la circulation des produits de gènes carbapénémase se fait dans deux directions: les sources environnementales peuvent fournir du matériel génétique comme source de ces enzymes et des souches cliniques peuvent disperser cette information à la

fois dans le milieu hospitalier et dans le milieu environnant. La Transmission des gènes carbapénèmases peuvent se produire aisément lorsque le gène est situé à l'intérieur des éléments mobiles, tels que des plasmides et des intégrons, entre différentes souches et espèces de bactéries.

2. **Transmission nosocomiale :** [2] [9] [46] [59] [87] [88] [89]

2.1 ***Accès aux soins dans les hôpitaux :***

Bien que les données soient restreintes, il semble que les facteurs de risque de l'infection et de la colonisation par les bactéries productrices de carbapénèmases soient similaires à ceux d'autres bactéries Gram négatif résistantes, telles que les bactéries *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* producteurs de Beta-Lactamases a Spectre étendu. Actuellement, le principal facteur de risque serait l'accès aux soins dans les établissements de soins de santé touchés par des bactéries productrices de carbapénèmases, comme les hôpitaux situés le long de la côte Est des États-Unis, en particulier New York (KPC), mais également la Grèce (KPC), Israël (KPC) et le sous-continent indien (NDM-1). Les personnes provenant du sous-continent indien, qu'elles

aient été traitées ou non dans des établissements de soins de santé, sont également à risque.

2.2 **Contact avec un cas confirmé d'ERC:**

La transmission des carbapénèmases surtout des KPC est essentiellement manuporté et concerne actuellement surtout des services à haut risque (Soins intensifs, transplantation d'organe).

Les bactéries productrices de carbapénèmases se transmettent par contact direct ou indirect. Le site de colonisation se trouve dans le tractus gastro-intestinal inférieur. Bien que l'environnement ait rarement eu une incidence sur les éclosions, les éviers et autres surfaces de l'environnement ont plus récemment été mis en cause dans la transmission des bactéries *Klebsiella* et *Pseudomonas spp.*

VII. Mécanismes de résistances :

1. Résistance aux carbapénèmes : ^[12] ^[62]

La résistance aux carbapénèmes n'est pas systématiquement induite par la production de carbapénèmases. Certaines bactéries Gram négatif peuvent être résistantes aux carbapénèmes par d'autres moyens. Cependant, si une résistance aux carbapénèmes est détectée, ces bactéries doivent être analysées afin de déterminer si elles produisent des carbapénèmases. En voici quelques Mécanismes de résistance aux carbapénèmes :

Chez les Entérobactéries :

- Production de Céphalosporinase + perte ou modification des porines.

- Production de Carbapénémase

Chez Pseudomonas spp.

- Perte ou modification des porines.

- Activation de la pompe à efflux.

- Production de Carbapénémase.

Chez Acinetobacter spp.

- Production de Céphalosporinase + perte ou modification des porines.

- Production de Carbapénémase.

Comme indique dans les exemples ci-dessus ,la résistance peut être due à des mécanismes chromosomiques (altération de la porine OprD chez *Pseudomonas aeruginosa*), à l'association de mécanismes de résistances (β -lactamase à spectre étendu [BLSE] et /ou céphalosporinase associée à une perte de la perméabilité membranaire en raison de la perte ou l'altération des porines chez les entérobactéries) ou à la production d'enzymes périplasmiques hydrolysant les carbapénèmes ; autrement dit ; carbapénèmases **FIG. 7.** ; ce qui empêche le médicament d'atteindre l'objectif « PBP (penicillin-binding-proteins) ». Ce dernier mécanisme est le mécanisme de résistance prédominant vis-à-vis des b-lactamines chez les BGN et reste le plus inquiétant par le fait que les gènes codant pour ces enzymes sont habituellement situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, intégrons) permettant une dissémination rapide. Les combinaisons de ces mécanismes peut causer des niveaux élevés de résistance aux carbapénèmes chez certaines espèces bactériennes, telles que *Klebsiella pneumoniae* , *P. aeruginosa* , et *A. baumannii*

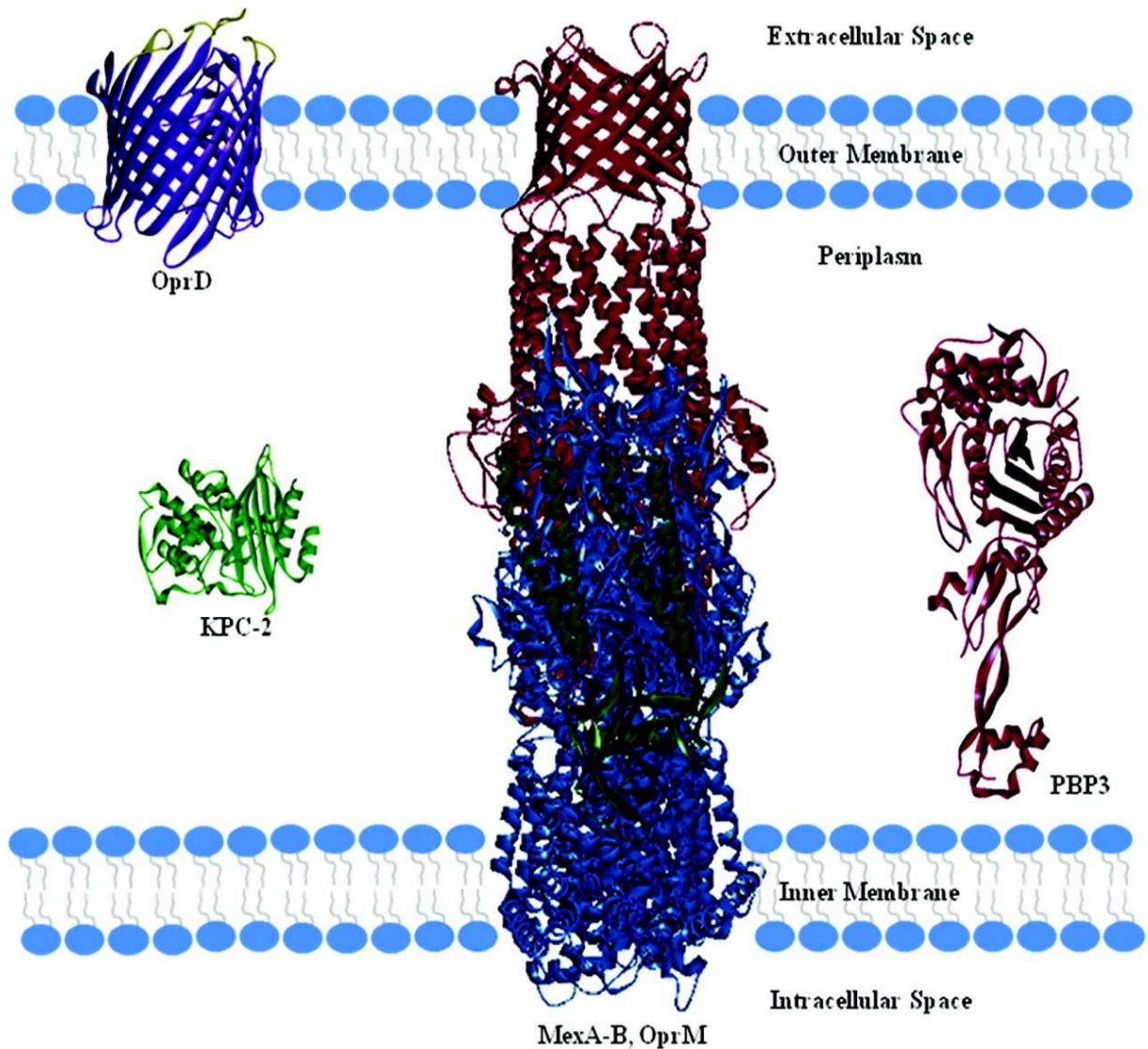


FIG. 7. Structures cristallines de la carbapénèmase, KPC-2 (Protein Data Bank [APB] identifiant 2OV5), présente dans le périplasm, *P. aeruginosa* porine, OPRD (liaison au substrat boucles surlignées en jaune) (identifiant APB 2ODJ) présente dans la membrane externe, *P. aeruginosa*, les composants de la pompe d'efflux MEXA, mexB, et OprM (APB identificateurs 1VF7, 2V50, et 3D5K), couvrant la membrane interne et externe et les membranes périplasmiques, et *P. aeruginosa* PBP3 (APB identificateur 3PBN), ancrée à la membrane intérieure. ^[15]

2. Mécanisme de résistance :

Structure/fonction et considérations parmi les carbapénèmases : ^[62] ^[91]

Comme décrit dans le chapitre classification, les Carbapénèmases appartiennent à deux grandes familles moléculaires, qui se distinguent par le mécanisme de l'hydrolyse dans le site actif :

- ✓ les serine-carbapénèmases qui contiennent une serine au niveau de leurs sites actifs qui sert comme nucléophile pour hydrolyser la liaison β -lactame : carbapénèmases classes A et D.
- ✓ les métallo-carbapénèmases qui contiennent au moins un atome de zinc au niveau du site actif qui sert à faciliter l'hydrolyse de la bague bi cyclique d'un β -lactame : carbapénèmases classes B.

2.1 **Mécanisme de résistance des Carbapénèmases de la classe A β -lactamases : [12] [13] [18]**

Plusieurs carbapénèmases de la classe A β -lactamases (KPC-2, SME-1, et NmcA) ont été cristallisés . Ces enzymes possèdent un ensemble distinctif de résidus du site actif qui sont soupçonnés d'être impliqués dans l'hydrolyse des carbapénèmes. Nous examinerons ici les caractéristiques importantes.

2.1.1 **KPC (Klebsiella pneumoniae carbapénémase):**

Les propriétés caractéristiques de ces enzymes incluent la présence d'une sérine dans leur site actif en position 70 et la présence d'un pont disulfure entre la Cys69 et la Cys238 ; cette liaison modifie la forme globale du site actif en modifiant la distance entre les résidus du site actif. Ces changements structurels diminuent l'encombrement stérique provoquée par la chaîne latérale C-6 hydroxyéthyl des carbapénèmes, qui est un facteur déterminant dans l'inhibition de la classe A β -lactamases non carbapénèmases, et permet aux carbapénèmases l'hydrolyse de l'imipénème avec une valeur (taux de roulement) k_{cat} de 10 à 1.000 s^{-1} . Des études de mutagenèse de la PME et de la KPC-1-2 β -lactamases ont révélé plusieurs sites qui peuvent être nécessaires pour la résistance aux carbapénèmes. Toutefois, la conclusion d'un seul résidu responsable de la résistance aux carbapénèmes reste insaisissable.

2.1.2 GES-2 (Guyane à spectre étendu) :

Le carbapénèmase GES-2 de la classe A est unique, car elle résulte d'une substitution d'un seul acide aminé (Gly170Asn) en GES-1, ce qui lui confère un spectre étendu β -lactamase-(BLSE), dans un carbapénèmase. GES-2 à une très faible k_{cat} pour l'imipénème de

$\sim 0,01 \text{ s}^{-1}$. La substitution Gly170Asn se trouve dans la boucle Ω du GES-2. L'Étude de modélisation moléculaire avec l'imipénème et la *silico*-génération du GES-2 indiquent que la forme du site actif accueille le fragment d'hydroxyéthyle. En outre, Asn170 interagit avec la molécule hydrolytique prédite. Une autre mutation à Gly170 à Ser (imitant GES-5) conduit à une activité carbapénèmase accrue par rapport à celle de GES-2; GES-5 présente un k_{cat} pour l'imipénème de $0,5 \text{ s}^{-1}$. Les premières études de modélisation moléculaire suggérant que l'imipénème est lié d'une manière similaire dans GES et GES-5-1, n'expliquent pas l'augmentation de k_{cat} . L'examen des constantes de vitesse microscopiques pour l'imipénème avec GES-1, -2 et -5, révèle que le facteur limitant pour les GES-1 et GES-2 est l'acylation. Le taux d'acylation pour l'imipénème est renforcé par 5.000 fois chez GES-5, mais il n'est plus limitant. La Désacylation est également renforcée dans GES-5, est devient le facteur limitant dans l'hydrolyse de l'imipénème. D'autres études de modélisation moléculaire avec GES β -lactamases ont révélé l'importance du mouvement de TRP105 à l'intérieur du site actif, ce qui peut modifier les taux d'acylation.

2.2 *Mécanisme de résistance des Carbapénèmases de la classe B β -lactamases* :^{[12] [13]}

Le Mécanisme d'hydrolyse des carbapénèmes est complexe et varie d'un MBL à l'autre. Ces MBL exigent un ou deux cations Zn^{2+} pour leur activité et sont subdivisés en trois groupes, B1, B2 et B3, basée sur des alignements de séquences et l'analyse structurelle.

Les trois groupes hydrolysent les carbapénèmes (k_{cat} pour l'imipénème est de 2 à 1000 s^{-1}), mais les β -lactamases dans le groupe B2 sont strictement carbapénèmases. Les enzymes B1 et B3 présentent généralement une activité maximale quand ils sont liés par deux ions Zn^{2+} . A l'inverse, les enzymes B2 fonctionnent avec un seul ion Zn^{2+} , et la liaison d'un autre ion Zn^{2+} diminue leur activité.

La CphA β -lactamase est une carbapénèmase stricte de la sous-classe B2 qui a été cristallisée avec un ion Zn^{2+} , deux ions Zn^{2+} , et un intermédiaire biapénème piégé dans le site actif. Auparavant, le deuxième inhibiteur du site de liaison Zn^{2+} a été postulé pour être à distance du site actif. Cependant, la structure cristalline de CphA dizinc révèle que cette liaison Zn^{2+} se trouve dans le deuxième site de liaison

Zn^{2+} , ce qui est similaire au cas de la sous-classe B1 et B3 métallo- β -lactamases.

La mécanique quantique et la mécanique moléculaire ont été utilisées pour disséquer le mécanisme d'hydrolyse des carbapénèmes par CphA. Un mécanisme prévu pour se produire dans une seule étape est présenté en (**Fig. 8**) A . Dans ce mécanisme, l'His118 est la base générale qui coordonne avec une molécule d'eau Asp120; cette eau sert comme nucléophile pour rupture de la liaison β -lactame. Asp120, Cys221, et His263 coordonnent Zn^{2+} avec une molécule d'eau, qui forme une liaison hydrogène avec la carboxylate de carbapénèmes. Cette seconde molécule d'eau donne un proton à l'azote du β -lactame pour terminer l'épreuve d'hydrolyse. Zn^{2+} ancre la désacylation de la molécule d'eau critique et stabilise le complexe.

En revanche, avec la sous-classe B1 et B3 di- Zn^{2+} métallo- β -lactamases, un atome Zn^{2+} diminue le $pK_{a_{une}}$ de la molécule d'eau pour produire un nucléophile hydroxyle pour attaquer la β -lactame, tandis que l'autre Zn^{2+} stabilise l'intermédiaire tétraédrique (**Fig. 8** B) . Une étude récente révèle une caractéristique commune catalytique de mono- Zn^{2+} et di- Zn^{2+} métallo- β -lactamases à l'aide du GOB-18, un membre des B3 métallo- β -lactamases . Cette enzyme est pleinement active avec un seul Zn^{2+} lié. Les études menées à ce jour indiquent qu'une seule Zn^{2+} est essentielle pour GOB-18 et que son rôle est d'ancrer le substrat et stabiliser l'intermédiaire anionique et non pour l'activation nucléophile (**Fig. 8C**) . Une caractéristique essentielle du mécanisme de la mono- Zn^{2+} chez GOB-18 est le positionnement de l'atome Zn^{2+} dans le site actif.

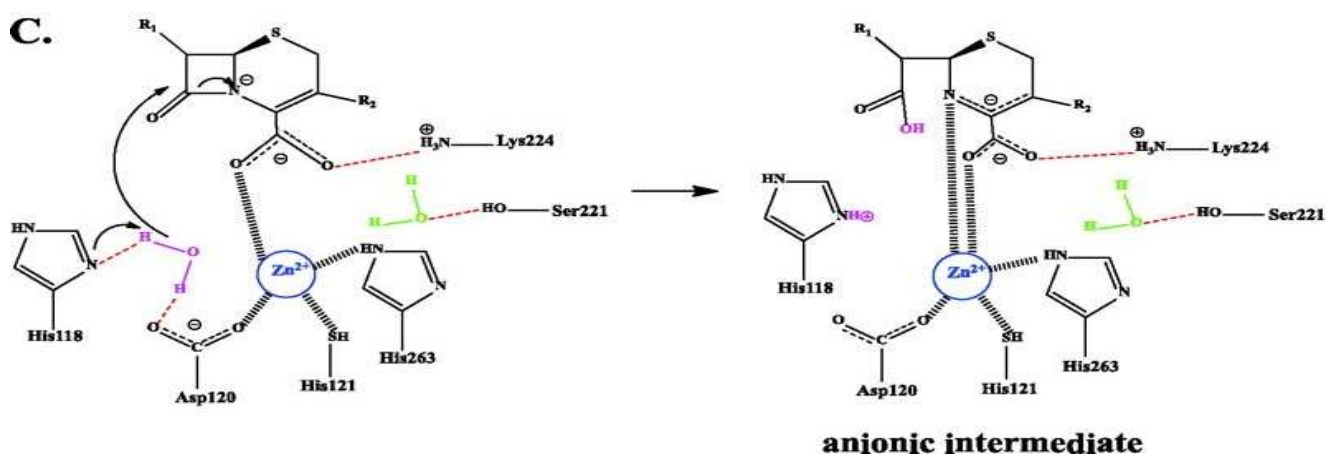
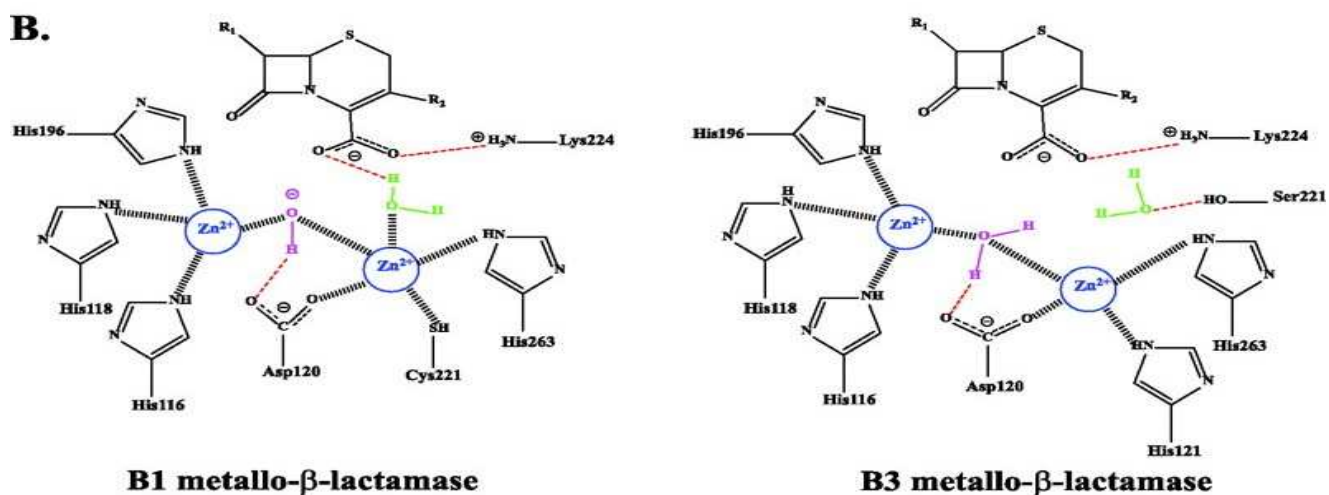
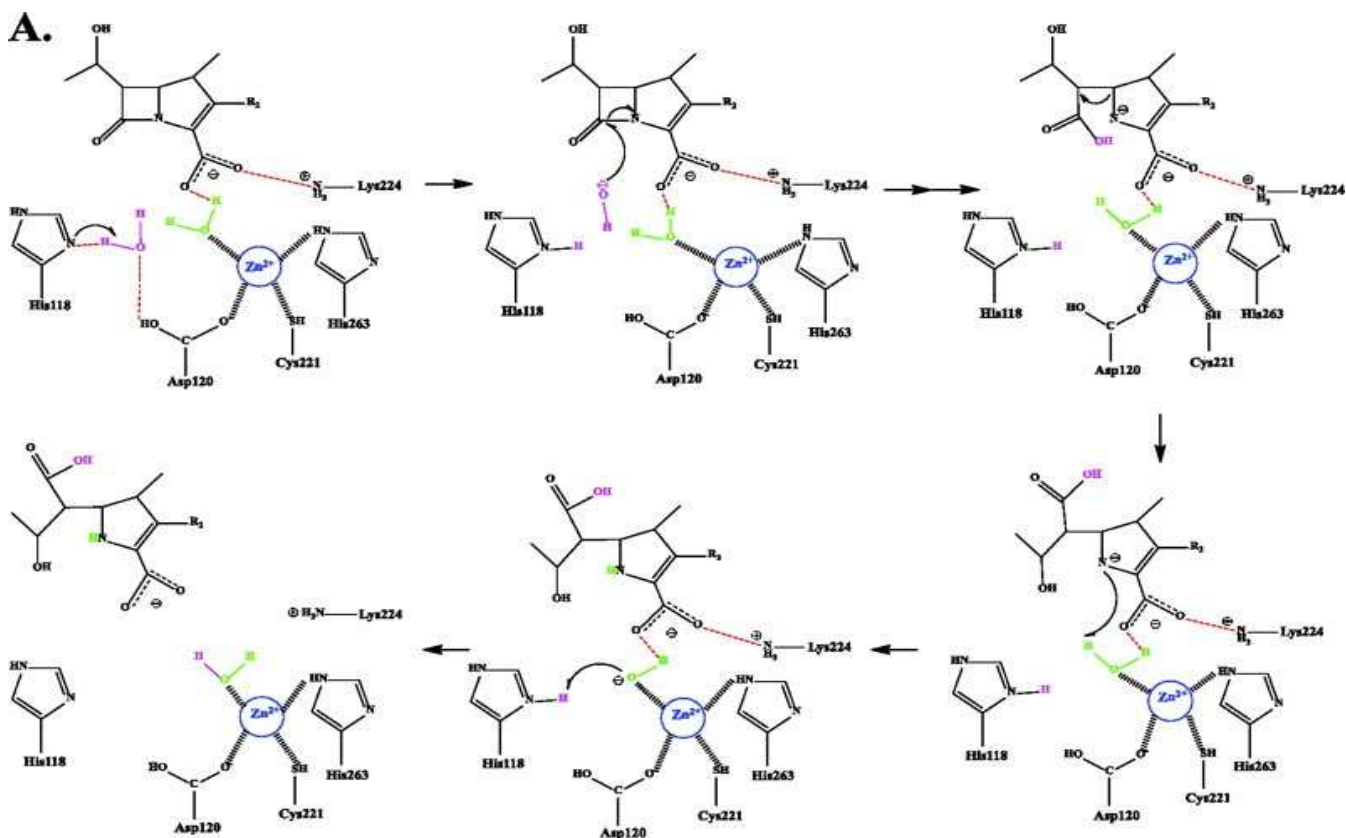


FIGURE 8. (A) Mécanisme d'hydrolyse des carbapénèmes par CphA. **(B)** sites actifs des sous-catégories B1 et B3 métallo- β -lactamases. **(C)** stabilisation de l'intermédiaire anionique GOB-18.^[15]

2.3 Mécanisme de résistance des

Carbapénèmases de la classe D β -lactamases :^{[12] [13]}

^[18]

L'hydrolyse des β -lactames de la classe D β -lactamases est différente de celle des enzymes de la classe A. Les enzymes OXA constituent une population très hétérogène de β -lactamases qui ont évolué à travers plusieurs mécanismes, leur k_{cat} pour l'imipénème sont $<5 \text{ s}^{-1}$. Les structures des OXA β -lactamases révèlent deux enzymes à deux architectures différentes, en outre, les deux enzymes ont des spécificités de substrat différentes pour les carbapénèmes.

Le mécanisme de la résistance aux carbapénèmes médié par OXA-24/40 a été étudié en premier; une nouvelle conformation de Tyr112 et Met223, qui forment un revêtement hydrophobe "tunnel" à proximité du site actif, a été retrouvée et est considérée comme le mécanisme central par lequel ces carbapénèmes sont hydrolysés par OXA-24/40. La présence du "tunnel" rétrécit le site actif d'OXA-24/40. En accord avec les observations cinétiques, le

site actif est supposé accueillir les petits carbapénèmes, par opposition à la plus grande oxacilline.

D'autre part, l'OXA-48 rappelle l'OXA-10, avec de subtiles différences au niveau du site actif. Le changement dans les résidus Thr213 His109, Arg214 et Arg244, semble jouer un rôle important dans les différences fonctionnelles entre OXA-48 et OXA-10.

Les orientations et les tailles de la boucle β 5- β 6 sont similaires dans les structures d'OXA-24/40 et OXA-48; cette observation implique que la boucle peut être importante pour hydrolyser les carbapénèmes. Cependant, la spécificité de substrat des deux diffère; OXA-48 hydrolyse l'imipénème tandis qu'OXA-24/40 affiche une préférence pour le méropénème.

Les structures cristallines des deux désacylation variantes déficientes (Lys84Asp et Val130Asp) de la carbapénémase OXA-24/40 dans un complexe avec la doripénème ont été récemment déterminées. Le but de ce travail était de déterminer si l'état tautomérique de l'anneau pyrroline contribue à des taux différents d'hydrolyse de carbapénème d'OXA-1 et OXA-24/40. Dans ces structures, la conformation doripénème dans le site actif diffère sensiblement de celle du complexe OXA-1/doripénème. Dans les structures de doripénème OXA-24/40, la chaîne latérale est un groupe hydroxyle du groupe hydroxyéthyle est dirigée à l'opposé de la base générale carboxy-Lys84 (numérotation différente de celle de OXA-1). Le "tunnel" formé par les ponts Tyr112/Met223

sous la forme d'apoenzyme OXA-24/40 est en grande partie inchangé par la liaison de doripénème. La présence de ce pont provoque la liaison du groupe pyrrolidine / sulfonamide ce qui confère une conformation différente de celle de doripénème lié à oxa-1. Ce changement de conformation est dû à l'état tautomère différent du doripénème dans le site actif et peut justifier le fait que les carbapénèmes sont hydrolysés par OXA-24/40, mais pas avec l' OXA-1.

VIII. Situation épidémiologique des carbapénèmases : [9] [16] [17]

Jusqu'à la fin des années 1990, les carbapénèmases décrites étaient spécifiques d'espèce et de déterminisme chromosomique. La prévalence des souches productrices, responsables d'infections sporadiques et de quelques petites épidémies, restait alors limitée puis, de façon plus préoccupante, des carbapénèmases de support plasmidiques ont été décrites :

- IMP-1, une métallo- β -lactamase chez *Pseudomonas aeruginosa* ,
- ARI-1 (OXA-23), une carbapénèmase de la classe D chez *Acinetobacter baumannii* ,
- KPC- 1, une carbapénèmase classe A chez *Klebsiella pneumoniae*.

Cette découverte a changé les modes de diffusion des carbapénèmases, ce qui était considéré comme un problème de diffusion clonale est donc devenu un problème plus global de diffusion inter espèces (tableau 5)

Tableau 5 : Principales carbapénemases acquises chez les bactéries à Gram négatif. [22]

Symbole	Nom	Espèces impliquées	Importance de la diffusion	Diffusion géographique	Support génétique
<i>Classe A</i>					
GES	Guiana Extended Spectrum	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i>	+	Europe, Amérique du Sud, Asie, Afrique	C, P
IMI	Imipenem-hydrolyzing β -lactamase	Entérobactéries	–	Amérique du Nord, Asie	C, P
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénemase	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	+++	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie	P
NMC	Not metalloenzyme carbapénemase	Entérobactéries	–	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud	C
SME	<i>Serratia marcescens</i> enzyme	Entérobactéries	–	Europe, Amérique du Nord	C
<i>Classe B</i>					
GIM	German imipenemase	<i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	–	Europe	P
IMP	Active on imipenem	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	++	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie	P
NDM	New Delhi metallo- β -lactamase	Entérobactéries, <i>Acinetobacter</i>	++	Europe, Amérique du Nord, Asie, Australie, Afrique	P
SIM	Seoul imipenemase	<i>Acinetobacter</i>	–	Asie	?
SPM	Sao Paulo metallo- β -lactamase	<i>Pseudomonas</i>	+	Amérique du Sud	P
VIM	Verona integron-encoded metallo- β -lactamase	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	+++	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie, Afrique	C, P
<i>Classe D</i>					
OXA-48	Oxacillinase	Entérobactéries	++	Europe, Amérique du Sud, Asie, Afrique	P
OXA-23	Oxacillinase	Entérobactéries, <i>Acinetobacter</i>	++	Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie, Afrique	C, P

P : support plasmidique ; C : support chromosomique.

En parallèle, le répertoire des carbapénèmases acquises est devenu de plus en plus complexe, du fait des nombreux types de sérine- carbapénèmases de classe A (KPC, GES, NMC/IMI et SME) , de métallo- β -lactamases (IMP, VIM, SPM, GIM, SIM et NDM) de classe B, et d'oxacillinases de classe D (OXA-23, OXA-24, OXA-48 et OXA- 58) décrits. Certaines enzymes ont diffusé à une vitesse alarmante dans certaines régions, où elles ont atteint de hauts niveaux d'endémicité.

1. Carbapénèmases de Classe A : [4] [1] [8] [9]

Les Carbapénèmases de classe A décrites au milieu des années 1980, ont tout d'abord été rapportées dans des espèces d'entérobactéries nosocomiales comme *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* ou *Klebsiella* spp, de façon sporadique ou lors de petites épidémies. Il existe des carbapénèmases de classe A chromosomiques (SME, NMC et IMI) et d'autres de support plasmidiques (KPC, GES). Les KPC sont les enzymes les plus cliniquement communs dans ce groupe.

1.1 KPC : [20] [21] [31][87]

La première souche productrice de KPC (KPC-1=KPC-2) a été identifiée en 1996 en Caroline du Nord aux États-Unis dans une souche de *K. pneumoniae*. Cette découverte fut rapidement suivie par la description de neuf autres variantes (KPC-3 à KPC-11). En quelques années, les producteurs KPC avaient répanu dans le monde et ont été décrits dans la partie continentale des États-Unis (encore principalement dans la côte Est des États) avec notamment une très forte prévalence dans l'état de New York et en particulier à Porto Rico, la Colombie, la Grèce, Israël, et la Chine (Figure 9). Les épidémies de producteurs KPC ont également été signalées dans de nombreux pays européens et en Amérique du Sud.

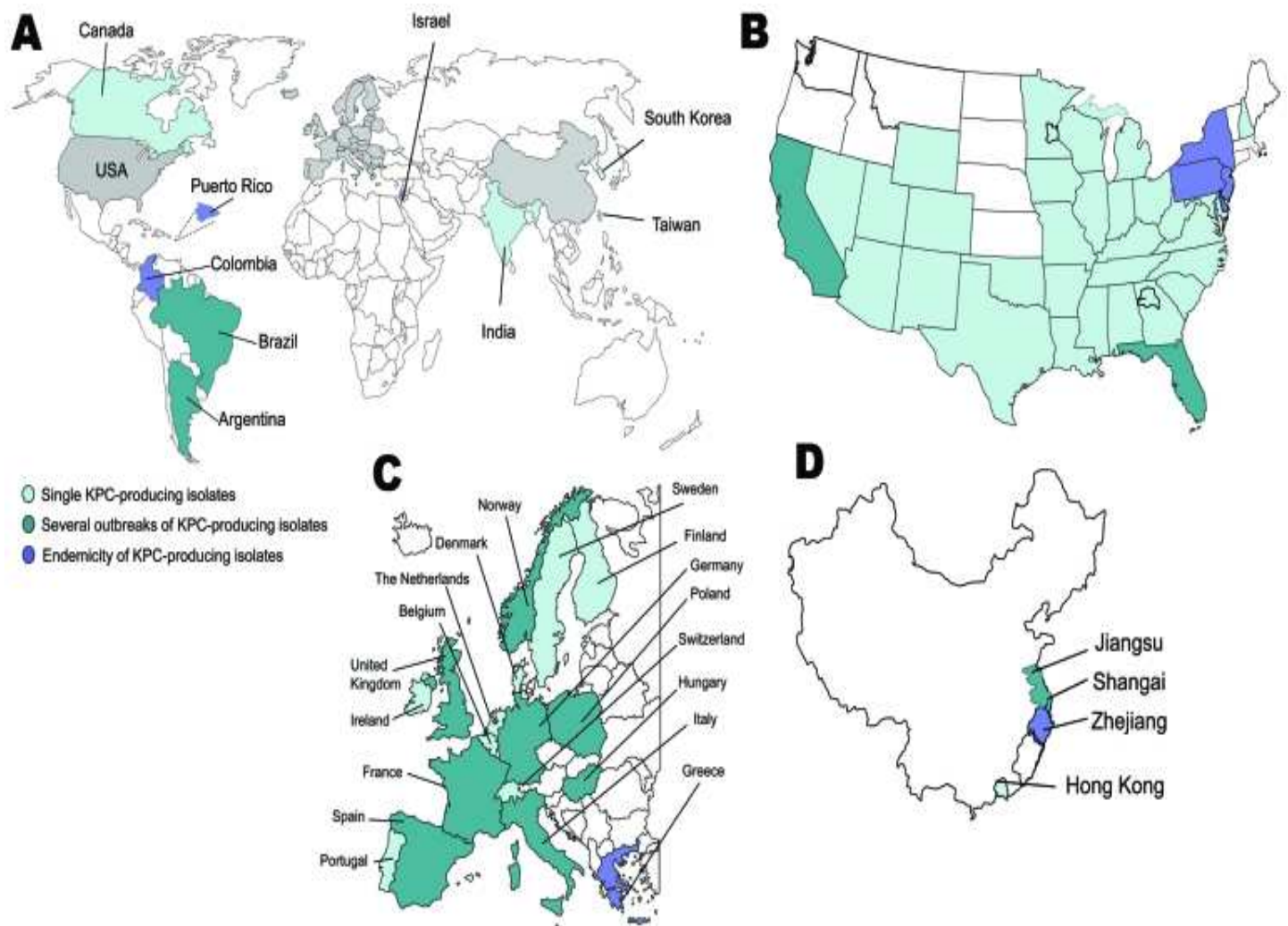


Figure 9. A) la distribution dans le monde géographique de *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase (CPK) les producteurs. Grisé indique les régions indiquées séparément: B) la distribution aux Etats-Unis; Répartition C) en Europe; D) de distribution en Chine. ^[56]

Les Producteurs KPC ont été signalés, principalement à partir de *K. pneumoniae* nosocomiale isolée, d'*E. coli* (notamment en Israël) et d'autres espèces d'entérobactéries. Un seul clone de *K. pneumoniae* (type de séquence [ST] -258) a été identifié dans le monde entier abondamment, ce qui indique qu'il pourrait avoir contribué à la propagation des gènes *bla*_{KPC}. Dans un lieu géographique donné, plusieurs clones KPC diffèrent par le type de diffusion, les séquences multilocus contenu β -lactamase supplémentaire et par la taille, le nombre et la structure des plasmides, mais les gènes *bla*_{KPC} sont associés à un seul élément génétique (transposon Tn 4401).^[40]

1.2 GES (pour la Guyane à spectre étendu):

Cette enzyme a été observée dans une *K. pneumoniae* isolée de la Guyane française en 2000. Les enzymes de la famille des GES diffèrent les uns des autres par une substitution 1-4 d'acides aminés. Deux enzymes ayant un profil similaire qui ont été décrits comme IBC-1 et IBC-2 (pour integron borne cephalosporinase) ont maintenant été rebaptisés GES-7 et GES-8 respectivement. Actuellement, il existe 22 types connus de GES. Celles-ci ont été observées chez des isolats de *K. pneumoniae*, *E. coli* et *P. aeruginosa* provenant de plusieurs pays (Grèce, France, Portugal, Afrique du Sud, la Guyane française, L'Argentine, le Japon et la Corée).

1.3 SME (*Serratia marcescens*) / IMI (pour l'imipénème hydrolyse β -lactamase) / NMC (pour carbapénèmase non métalloenzymatique): ^[31]

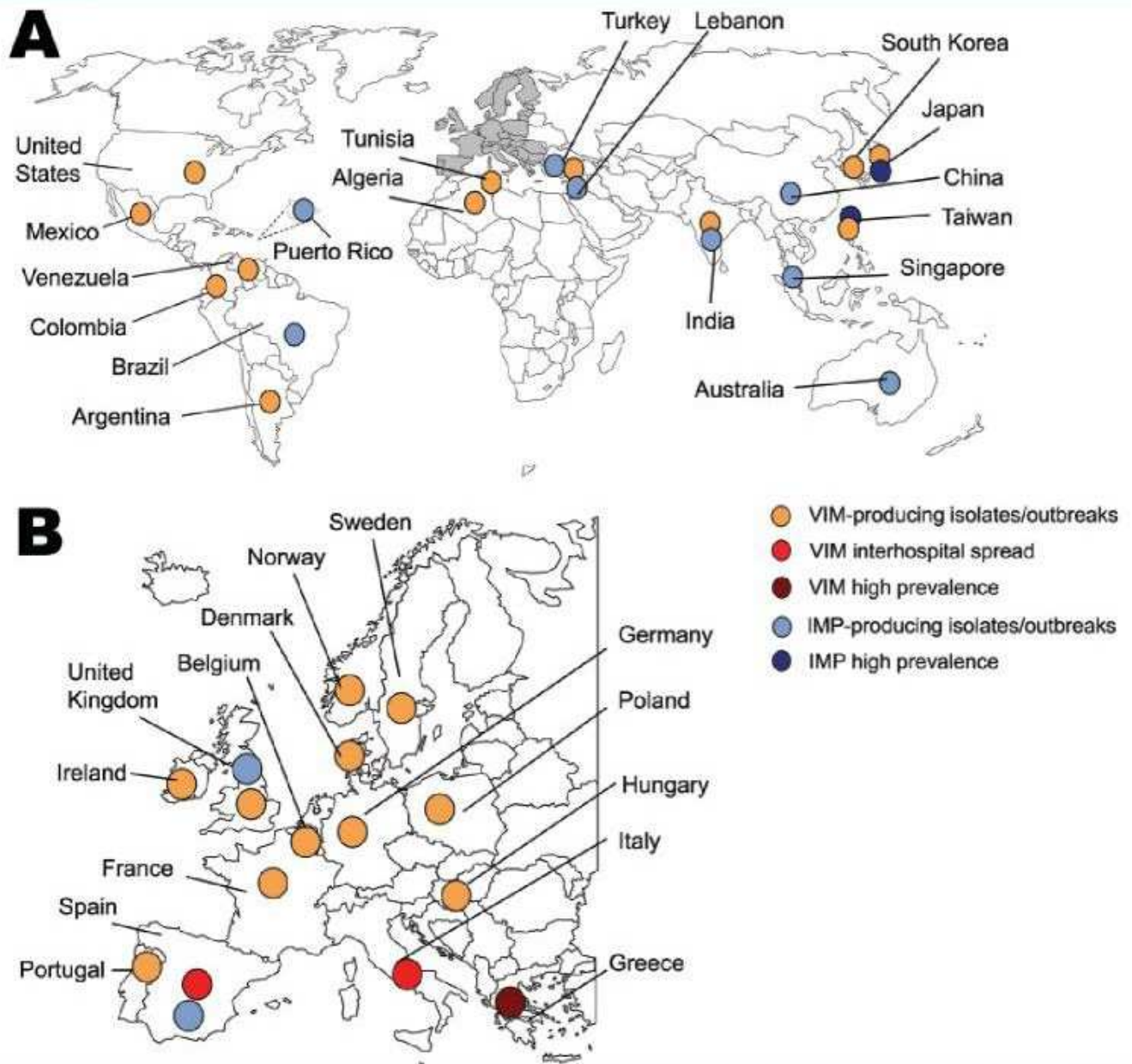
SME-1 fut identifiée en 1982 en Angleterre chez deux souches de *S. marcescens* . Puis les enzymes SME-2 et SME-3 ont été rapportées de façon sporadique aux États-Unis tandis que IMI et NMC-A l'ont été dans de rares isolats cliniques d'*Enterobacter cloacae* aux États-Unis, en France et en Argentine . Ces trois gènes de carbapénèmases n'ont été que rarement décrits, probablement du fait de leur localisation chromosomique, sans association évidente avec un élément génétique mobile. Cependant, le gène codant pour IMI-2 a été récemment retrouvé sur un plasmide dans une souche d'*Enterobacter asburiae* aux États-Unis, et dans une souche d'*E. cloacae* en Chine .

2. Carbapénèmases de Classe B métallo- β -lactamases : [4] [8]

Les enzymes de type VIM (Verona Integron encoded Metallo- bêta-lactamase) et IMP (Imipénémase) qui représentent la majorité des carbapénèmases de classe B ont été rejointes en 2008 par une nouvelle enzyme appelée NDM-1 (New Delhi métallo-bêta-lactamase 1).

2.1 *IMP (pour actif sur l'imipénème):*

IMP-1 a été détectée pour la première fois au Japon en 1990 sur un plasmide conjugatif dans une souche de *Pseudomonas aeruginosa*. Ils ont ensuite été signalés en 1991 toujours au Japon dans quatre isolats de *Serratia marcescens*. Ceci a été suivi par un autre rapport décrivant une telle résistance dans un isolat de *Bacteriodes fragilis*. L'IMP-2 a été observée chez *Acinetobacter baumannii* en Italie. Depuis, ce type d'enzyme a diffusé dans le monde entier (actuellement 37 types connus d'IMP) et les enzymes de type IMP sont désormais endémiques dans certains pays tels que la Grèce, l'Italie, l'Espagne, Taiwan et le Japon . Bien que des éclosions et des rapports simples ont été signalés dans de nombreux autres pays (Figure 10).



Source: Emerg Infect Dis © 2011 Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

Figure 10. La répartition géographique de Vérone intégron-métallo- β codée-lactamase (VIM) et les producteurs IMP entérobactéries. Dans le monde entier (A) et européen (B).

2.2 **VIM (pour Vérone intégron codé métallo- β -lactamase):**

VIM-1 a été isolée pour la première fois en 1997 en Italie à Vérone dans une souche de *P. aeruginosa* puis un VIM-2 a été signalé dans un isolat clinique de *P. aeruginosa* en France. La famille VIM est actuellement constituée de 34 types de VIM connus. Ces MBL sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont également été décrites chez de nombreuses entérobactéries, en particulier *K. pneumoniae*. L'enzyme VIM-2 est le plus dominant des MBL à travers l'Europe. Il a été détecté dans plus de 23 espèces réparties dans 40 pays. Les autres familles de MBL, comme SPM, GIM ou SIM ont également été décrites de façon sporadique, mais ne semblent pas avoir diffusé au-delà de leur pays d'origine.

2.3 **NDM-1 (New Delhi métallo- β - lactamases) : [24] [25] [26]**

Récemment, une nouvelle MBL transférable, NDM-1 découverte en 2008 en Suède chez un patient d'origine indienne ayant auparavant été hospitalisé à New Delhi, a été décrite chez les entérobactéries, principalement *E. coli* et *K. pneumoniae*, en Inde et au Pakistan, mais également en Europe (Suède, Royaume-Uni, France, Pays-Bas, Allemagne), aux États-Unis, au Canada, en Australie, au Kenya, au Sultanat d'Oman, et à Hong-Kong. En Inde, NDM-1 a

été récemment décrite chez *Acinetobacter baumannii* (figure 11). Des résultats récents suggèrent que les pays des Balkans et du Moyen-Orient peuvent agir comme réservoirs secondaires de NDM-1 producteurs.^[39]

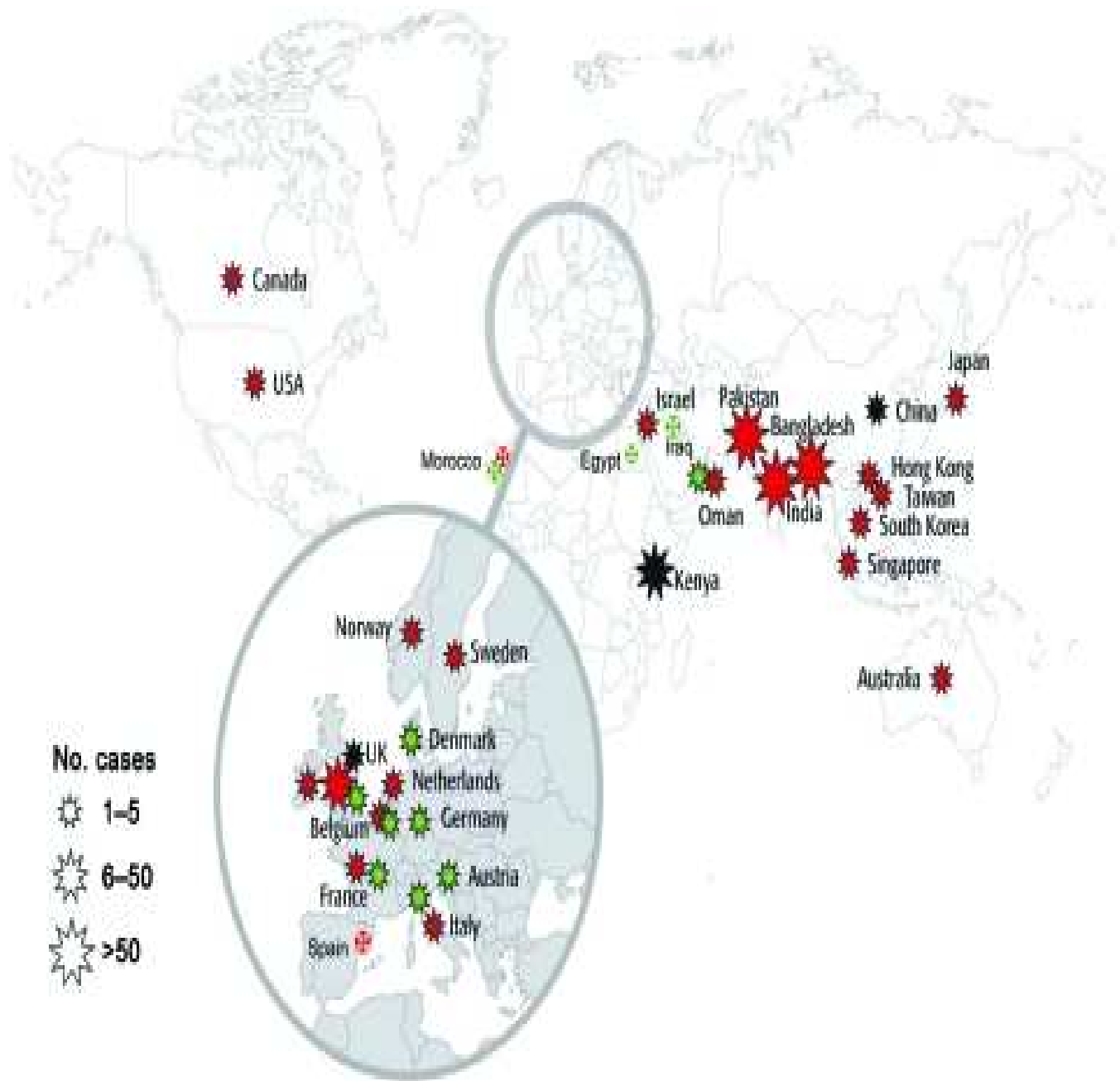


Figure 11. Répartition géographique des New Delhi métallobactamase-1 les producteurs (EID, le 15 juillet 2011). Taille étoile indique le nombre de cas signalés. Les étoiles rouges indiquent les infections remontent à l'Inde, le Pakistan, le Bangladesh ou, étoiles vertes indiquent les infections tracées. ^[56]

Dans tous les cas, un lien avec un séjour dans le sous-continent indien a été mis en évidence. Plusieurs épidémies ou cas sporadiques ont été décrits en milieu hospitalier ou en milieu communautaire. Ce type d'enzyme a été principalement isolé chez *K. pneumoniae*, et dans une moindre mesure, chez les autres entérobactéries.

Un des principaux facteurs de risque pour l'acquisition de bactéries productrices de NDM-1 (en dehors de voyages dans les pays à risque) est la prescription antérieure de β -lactamines ou de fluoroquinolones.

Plusieurs facteurs font de cette enzyme une réelle menace sanitaire mondiale :

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

L' *E. coli* est la cause la plus fréquente de la diarrhée chez les enfants en Inde. Par conséquent, cet organisme peut augmenter le risque de souches résistantes aux médicaments rejetés dans l'environnement et leur propagation chez les humains. En conséquence, les producteurs de NDM-1 ont été récemment identifiés parmi beaucoup d'indépendantes espèces à Gram négatifs dans l'environnement et dans l'eau du robinet à New Delhi figure 12 .^[25]



Figure 12. Carte de NDM-1-échantillons positif de New Delhi centre et les régions avoisinantes avril 2011^[25]

Très récemment, l'apparition de nouvelles variantes de NDM- 1, nommés NDM-2 et NDM-4 a été décrite. NDM-2 a pour particularité d'atteindre les souches d'*A. baumannii* épargnées jusqu'alors par NDM-1. Ce variant a été décrit en Egypte et au Moyen-Orient . NDM-4 a été détectée chez *Escherichia coli* .

3. Carbapénèmases de classe D (oxacillinases) : [4] [8]

La première enzyme avec une activité carbapénémase OXA a été observée dans un isolat d'*A. baumannii* de l'Ecosse en 1985. Il a été initialement nommé ARI-1 (pour *Acinetobacter* résistante à l'imipénème). L'enzyme a ensuite été rebaptisé OXA-23. Actuellement les OXA-48 sont les enzymes les plus cliniquement retrouvées dans ce groupe. La première souche de *K. pneumoniae* productrice d'OXA-48 a été isolée en Turquie en 2003. Depuis, les bactéries productrices d'oxacillinases, notamment OXA-48, ont très largement émergé dans tous les pays du pourtour méditerranéen et en Afrique (Figure 13). Il y a une tendance à la hausse de l'identification des OXA-48 producteurs dans des pays tels que la France, l'Allemagne, l'Espagne, les Pays-Bas et au Royaume-Uni grâce au transfert de patients hospitalisés entre zones d'endémie qui sont la source d'épidémies hospitalières (Figure 13) . Les OXA-48 producteurs n'ont pas été signalés aux États-Unis et au Canada.

Plus récemment, des souches produisant une oxacillinase similaire, OXA-181, ont été isolées en Inde ou chez des patients d'origine indienne.

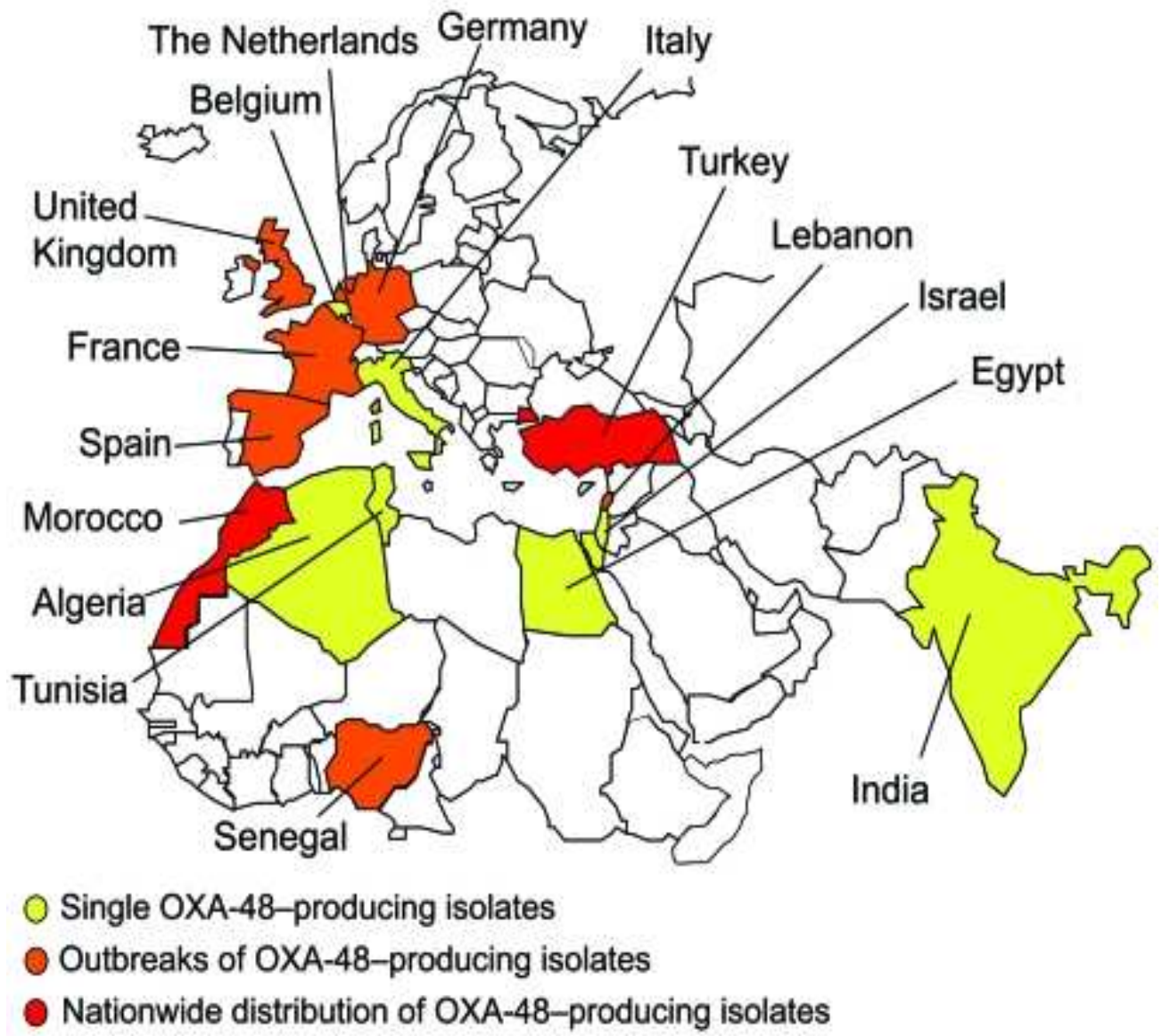


Figure 13. Répartition géographique des oxacillinases-48 (OXA-48) Type producteurs. ^[56]

IX. Dépistage des carbapénèmases :

La détection au laboratoire des carbapénèmases constitue un enjeu majeur, car elle permet le choix d'un schéma thérapeutique approprié, l'isolement précoce des patients, la mise en place des mesures de contrôle de la dissémination de ces souches dans nos hôpitaux et empêche le risque d'impasse thérapeutique qui en découlerait (souches panrésistantes). Les dernières recommandations nous imposent leur recherche systématique dans certaines situations très claires.

Cette détection fait appel à plusieurs méthodes que l'on peut répartir en 3 groupes :

- ✓ Méthodes phénotypiques,
- ✓ Méthodes génotypiques,
- ✓ Méthodes enzymatiques.

1. Méthodes phénotypiques : [8] [9] [14] [45] [51] [52]

La **détection phénotypique** des carbapénèmases peut être entreprise selon plusieurs approches, des tests de sensibilité (**test de Hodge** modifié), des **tests d'inhibition** (ex. Kit carbapénémase Rosco, E-test MBL BioMérieux ou disque MBL BioRad), des tests sur milieu chromogène fondées sur l'étude de

la sensibilité aux carbapénèmes et à certaines autres bêta-lactamines comme le moxalactam et la témocilline en présence ou en l'absence de certains inhibiteurs comme l'EDTA, l'acide dipicolinique, l'acide boronique et la cloxacilline.

On dispose à ce jour de plusieurs techniques phénotypiques pour détecter les carbapénémases. Ces techniques sont déjà utilisées dans de nombreux laboratoires. Cependant, parce que les performances exactes de ces techniques en termes de sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et rapports de vraisemblance n'ont pas encore été suffisamment évaluées, le CA-SFM (Conseil d'Administration de la société française de microbiologie) ne peut encore recommander un algorithme unique de détection. Pour ces raisons il est préférable de considérer comme suspect de producteur carbapénémase toute souche de sensibilité diminuée ou NON-SENSIBLE (I/R) aux carbapénèmes. Il est cependant indispensable de communiquer dès maintenant à la communauté des bactériologistes des laboratoires de biologie médicale la liste des techniques les plus efficaces, sous forme d'une lettre d'information. Dès que possible, le CA-SFM recommandera un algorithme qui sera probablement basé sur une combinaison ordonnée de plusieurs tests.

Tous les cas positifs dépistés à l'aide de ces méthodes phénotypiques doivent conduire à une analyse moléculaire de la résistance, soit localement,

soit en transférant la souche dans un Centre National de Référence ou un laboratoire expert. Enfin, les propriétés enzymatiques des carbapénèmases de classe D n'ont pas permis le développement de tests phénotypiques spécifiques pour leur détection. Ainsi, l'identification spécifique de tels organismes nécessite des techniques moléculaires (PCR spécifiques des gènes d'intérêt). Il est aussi important de noter que les tests phénotypiques sont non contributifs pour les souches coproduisant différentes classes de carbapénèmases.

1.1 Etude de la sensibilité aux carbapénèmes : antibiogramme CMI : [34] [69]

1.1.1 *Seuil de sensibilité et le débat autour de la détection : [8] [27] [35]*

La détection des producteurs carbapénèmases dans des échantillons cliniques est d'abord basée sur l'analyse des tests de sensibilité , obtenus par diffusion sur disque ou par des systèmes automatisés , selon les lignes directrices américaines (CLSI= Clinical and Laboratory Standards Institute) mises à jour en 2012, la détection des producteurs carbapénèmases basée uniquement sur des valeurs de CMI peuvent manquer de sensibilité, car devant la multitude de phénotypes, elle ne peut pas être uniquement basée sur le

profil de résistance. De plus, certaines souches productrices de carbapénèmases sont, quelle que soit la méthode d'antibiogramme utilisée, catégorisées sensibles (S) aux carbapénèmes, notamment aux molécules autres que l'ertapénème, méropénème et l'imipénème.

Aux Etats-Unis, les seuils de CMI préconisés par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ont été significativement abaissés afin de permettre une meilleure détection des souches résistantes aux carbapénèmes. Les seuils du CLSI mis à jour en 2012 sont ainsi désormais plus bas que ceux recommandés par les autorités européennes représentées par l'EUCAST (European committee on antimicrobial susceptibility testing) et françaises représentées par le CA-SFM (Conseil d'Administration de la société française de microbiologie) (Tableau 6).

Tableau 6 : Seuils des points d'arrêt (CMI, mg / L) préconisés par les standards français, européen et américain pour l'interprétation de la sensibilité des souches productrices de carbapénémase aux carbapénèmes. ^[56]

Molécule	CA-SFM et EUCAST		CLSI	
	S	R	S	R
<u>Doripénème</u>	≤ 1	> 4	≤ 1	≥ 4
<u>Ertapénème</u>	≤ 0,5	> 1	≤ 0,25	≥ 1
<u>Imipénème</u>	≤ 2	> 8	≤ 1	≥ 4
<u>Méropénème</u>	≤ 2	> 8	≤ 1	≥ 4

S = sensibilité ; R = résistance

Puisque les valeurs de CMI de l'ertapénème sont généralement plus élevées que ceux des autres carbapénèmes ce dernier est le carbapénème le plus sensible pour la détection des souches productrices de carbapénèmases. On doit suspecter la production d'une carbapénémase lorsque le diamètre d'inhibition autour du disque d'ertapénème est < 28 mm ou que la CMI est $\geq 0,5$ mg/L.

1.1.2 **Test de Hodge modifié (MHT): (ou clover leaf method)** ^{[14] [36] [44] [69] [86]}

Le test de Hodge modifié (MHT) a été très utilisé comme méthode phénotypique générale de détection de la production de carbapénémase, et c'est pour le moment la seule méthode recommandée par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Ce test consiste à ensemencer en culture confluyente (à l'aide d'un écouvillon) une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ d'une suspension de Densité Optique (DO) = 0.5 Mc Farland de la souche *E. coli* ATCC 25922 sur une gélose Muller Hinton. Ensuite, un disque d'imipénème chargé à 10 μg est déposé au centre de la boîte et . Les souches test suspectées de produire une carbapénémase et les souches témoins (ex. : témoin positif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 productrice de carbapénémase KP-2 et témoin négatif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 non productrice de carbapénémase)) sont ensemencées en strie depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'au moins 20 mm. La présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque

d'imipénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif après incubation pendant 18 h à 37°C (Figure 14).

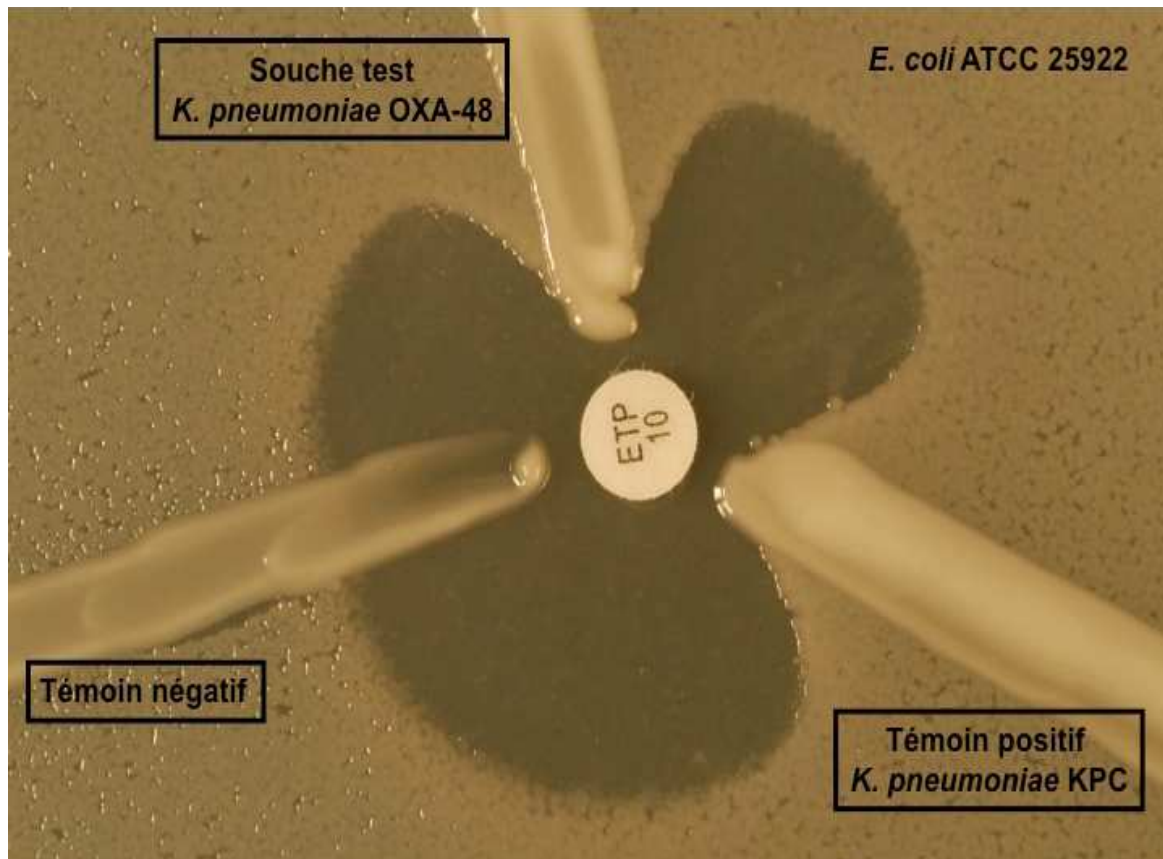


Figure 14. Test de Hodge modifié pour la détection des carbapénémases. La production de carbapénémase est objectivée par une déformation de la zone d'inhibition autour d'un disque d'ertapénème (ETP) de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 le long des stries correspondant au témoin positif (T+, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 produisant la carbapénémase KPC- 2) et à la souche test (ici *K. Pneumoniae* produisant OXA-48). La zone d'inhibition de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 reste inchangée au contact de la strie correspondant un témoin négatif (T-, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706).^[14]

Le test de Hodge peut parfois être faussement négatif, notamment avec les souches productrices de carbapénèmases de type NDM-1. L'ajout de ZnSO₄ (100 µg/ml) dans le milieu permet d'augmenter très notablement la sensibilité du test dans ce cas. Un test d'inhibition par des inhibiteurs spécifiques des β-lactamases de classe B (EDTA ou acide dipicolinique, cf. Ci-dessus) est également utile dans ce cas.

Le test de Hodge peut parfois être faussement positif pour les souches ayant un défaut d'accumulation des carbapénèmes associé à la production de céphalosporinases et/ou de BLSE. La réalisation du test de Hodge modifié en ajoutant de la cloxacilline sur le disque d'ertapénème (déposer 10 µl d'une solution aqueuse à 75 mg/ml de cloxacilline sur le disque d'ertapénème) permet d'éliminer les faux positifs liés à la production de céphalosporinase.

La référence pour la détection des carbapénèmases est l'amplification du gène codant pour la carbapénémase.

Les inconvénients de cette méthode sont sa durée (24-48 h), son manque de spécificité (nombreux faux positifs pour les souches hyperproductrices d'AmpC ou de CTX-M) et de sensibilité (difficulté de détection des souches productrices de NDM). Elle nécessite donc une certaine expérience.

Ce test est sensible pour la détection des carbapénèmases (surtout KPC et OXA-48), mais ne fournit pas d'information sur le type de carbapénémase

mis en cause. Par ailleurs, un manque de sensibilité pour la détection des MBL de type VIM et NDM ont été décrits (résultats souvent faussement négatifs) et des difficultés d'interprétation de ce test chez des faibles producteurs de carbapénèmases ont également été mises en évidence.

1.2 TESTS d'inhibition : ^[36] ^[69]

Les **tests d'inhibition** sont basés sur la synergie entre les inhibiteurs de carbapénèmases comme l'EDTA, et un carbapénème (méropénème ou imipénème). Ce test peut être réalisé à partir de disques (test de synergie sur doubles disques ou test de disque combiné) ou en utilisant les bandelettes E-test MBL (Biomérieux) commercialisées. Cependant, ces tests doivent être interprétés avec prudence et il est fortement recommandé d'inclure un contrôle de l'activité intrinsèque de l'inhibiteur.

Les inhibiteurs utilisés sont :

- * l'EDTA ou acide dipicolinique pour les enzymes de classe B.
- * l'acide boronique (ex. : acide para-amino-phenyl boronique) pour les enzymes KPC de classe A.

Selon les recommandations des groupes d'experts de l'EUCAST et de l'EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) :

- la détection des enzymes de classe B chez les entérobactéries doit être basée sur le test de disque combiné méropénème et méropénème plus EDTA (0,25 M). Le test est considéré positif lorsqu'il existe une augmentation de la zone d'inhibition de 5 mm ou plus.
- La détection de souches productrices de KPC ou autres carbapénèmases de classe A est basée sur l'effet inhibiteur de l'acide boronique. Le mécanisme d'inhibition n'est pas connu, mais il semble que les méthodes basées sur l'acide boronique montrent une très bonne sensibilité dans la détection des producteurs de KPC.

En testant les carbapénèmes sur un milieu contenant de la cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase) et, comparativement, sur un milieu sans cloxacilline, on peut détecter une résistance aux carbapénèmes non liée à la production d'une carbapénémase mais à l'association de céphalosporinase et de défaut d'accumulation des carbapénèmes, qui se traduit par une augmentation importante des diamètres d'inhibition sur le premier milieu.

Il faut signaler que certains des inhibiteurs ci-dessus cités manquent de spécificité : les acides boroniques peuvent inhiber des céphalosporinases et l'EDTA peut avoir une activité antibiotique intrinsèque sur certaines souches.

A ce jour, il n'existe pas de test d'inhibition spécifique des carbapénèmases de classe D (ex. OXA-48). La production de ces enzymes est

suspectée si tous les tests d'inhibition cités ci-dessus sont négatifs. Dans ce cas le test de Hodges est particulièrement utile (cf. ci-dessous).

La valeur ajoutée des tests d'inhibition de détection à base d'inhibiteurs de carbapénèmases reste variable. Ils prennent beaucoup de temps et ont une sensibilité et spécificité variable. En outre, ils nécessitent des microbiologistes qualifiés.

1.2.1 E-tests : [69] [101]

Ce test repose actuellement sur la diminution de la CMI de ces molécules en présence d'inhibiteurs spécifiques de β -lactamases .

Les bandelettes E-test MBL bioMérieux, Solan, Suède (Figure 15) permettent la détection des métallo- β -lactamases en combinant l'imipénème et l'EDTA. D'autres bandelettes existent combinant le méropénème et l'EDTA ou l'acide boronique. Un test positif pour une métallo- β -lactamase est interprété comme une diminution triple-ou-supérieure à la CMI imipénème en présence d'EDTA.

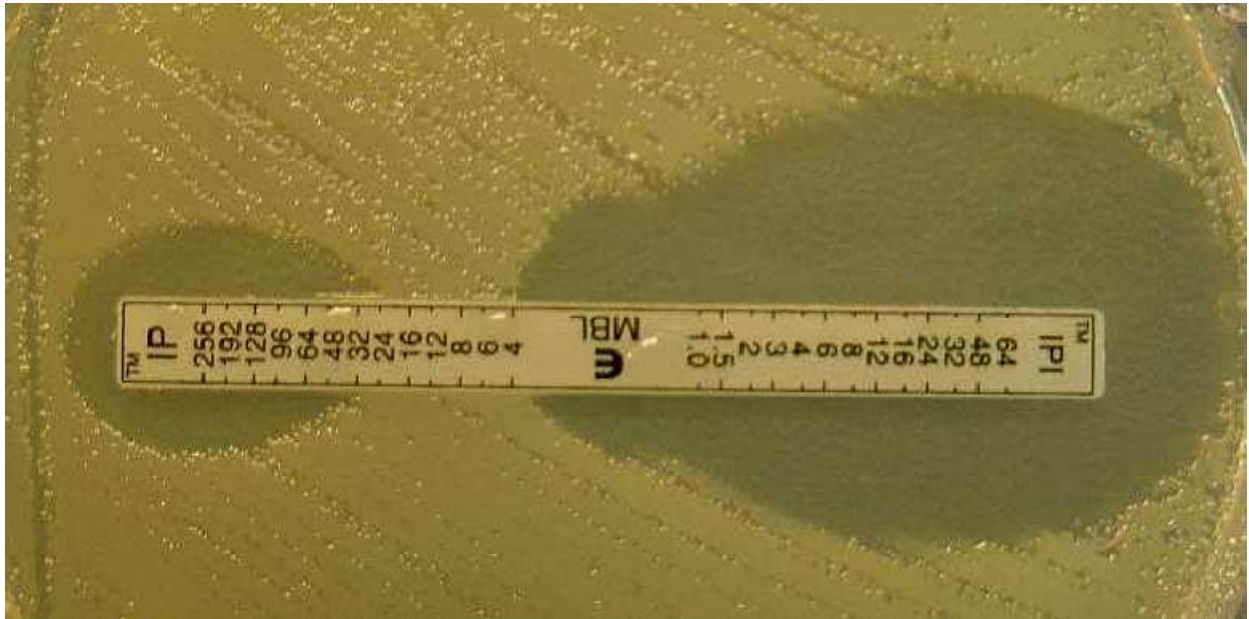


Figure 15. Etest MBL (Imipenem vs Imipenem/EDTA) *K. pneumoniae* VIM-1 IP = 32 $\mu\text{g/ml}$ - IP+EDTA < 1 $\mu\text{g/ml}$ ≥ 8 ou $\geq 3 \log_2$ [95]

A droite : imipeneme + EDTA : cette carbapenemase est sensible à EDTA

A gauche : imipénème seul

Cette bandelette de test produit une sensibilité de 94% et une spécificité de 95% quand on les examine avec un ensemble de 138 métallo- β -lactamases caractérisées productrices . Toutefois, des résultats faussement négatifs ont été rapportés pour l'Etest quand un isolat avait un bas niveau de résistance aux carbapénèmes (une CMI imipenem <4 ng / ml) .Il a également été observé que l'EDTA seul a une action inhibitrice contre certaines bactéries dues à la perméabilisation de la membrane externe et peut conduire à des résultats faussement positifs. Des tests de détection Etest métallo- β -lactamases ont également permis des résultats faussement positifs avec OXA-23-producteur *A. baumannii*.

1.2.2 Méthodes des disques combinés :^[41] ^[69]

Ce test repose actuellement sur l'augmentation du diamètre d'inhibition autour d'un disque combinant un carbapénème (méro pénème ou imipénème) et un inhibiteur.

Récemment, des disques utilisant le méropénème combiné à différents inhibiteurs de β -lactamases ont été commercialisés afin de permettre la détection et l'identification du mécanisme à l'origine de la résistance aux carbapénèmes. En particulier, ces disques permettent de distinguer la production de carbapénémases de la présence d'une céphalosporinase de haut niveau ou de BLSE couplée à une modification des porines.

Dans ce but, les disques KPC/MBL[®] (Rosco Diagnostica) figure16 sont déposés sur une gélose Muller Hinton sur laquelle a préalablement été ensemencée en culture confluyente une suspension de DO = 0.5 Mc Farland de la souche testée. Ces disques contiennent respectivement du méropénème, du méropénème couplé à de l'acide dipicolinique (DPA, inhibiteur des enzymes de classe B), du méropénème couplé à de l'acide aminophénylboronique (APB, inhibiteur des enzymes de classe A) et du méropénème couplé à de la cloxacilline (inhibiteur des céphalosporinases hyperproduites).

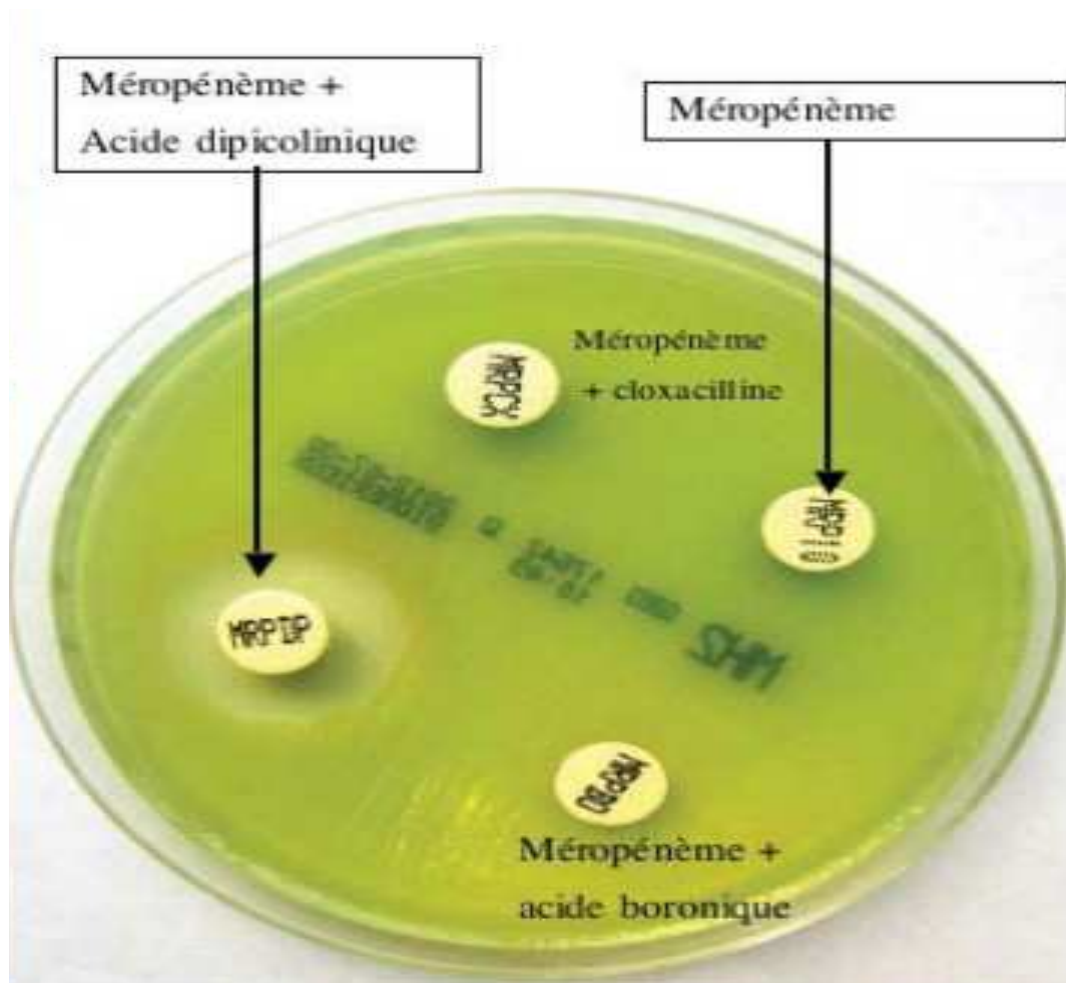


Figure 16 : Mise en évidence d'une carbapénèmase chez *Pseudomonas aeruginosa* par disques KPC/MBL[®] (Disques ROSCO, distribués par Eurobio), Ici l'augmentation du diamètre d'inhibition en présence d'acide dipicolinique est en faveur d'une MBL. ^[96]

D'après les recommandations du fabricant, une différence ≥ 5 mm entre le disque combiné et le disque chargé avec uniquement le méropénème est considérée comme positive. La synergie observée entre le méropénème et l'ABPA ainsi que le méropénème et la cloxacilline a été détectée chez des souches cumulant une perte de porines à une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique alors que la synergie entre le méropénème

et l'ABPA uniquement a été mise en évidence chez des souches productrices de carbapénémases de classe A. De même, le DPA a démontré d'excellentes sensibilité et spécificité pour la détection des enzymes de classe B (figure 17).

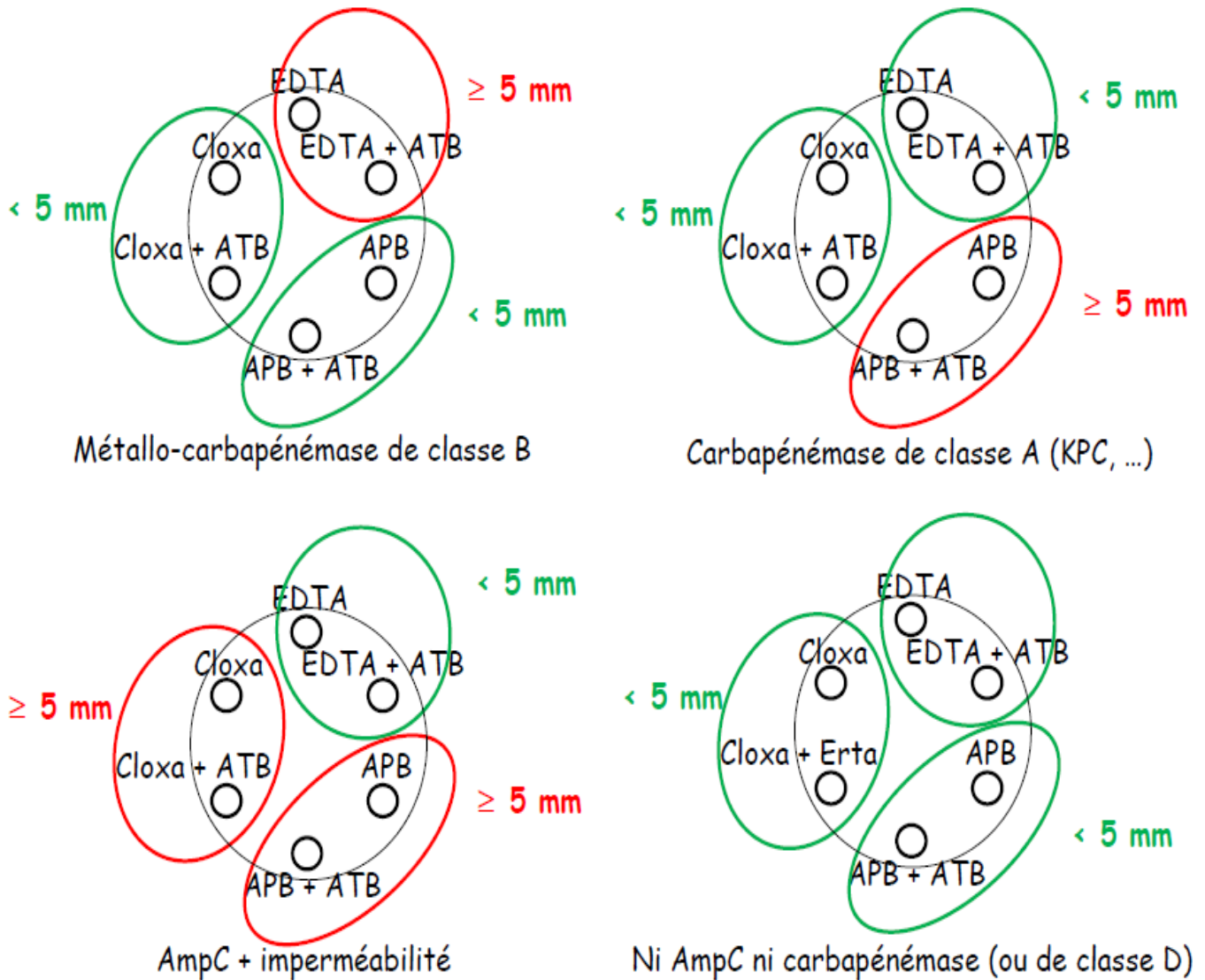


Figure 17. Différents milieux gélosés avec inhibiteurs. Une différence ≥ 5 mm entre le disque combiné et le disque chargé est considérée comme positive.

1.3 Milieux chromogènes: [37] [40] [43]

Les milieux chromogènes sont des milieux de culture qui permettent de mettre en évidence une enzyme spécifique d'une espèce bactérienne ou d'un groupe d'espèces. Ils utilisent des substrats chromogènes permettant la coloration des colonies suite à la dégradation de chromophores par les enzymes bactériennes. On identifie donc l'espèce (ou le groupe) par la coloration des colonies.

Trois milieux de dépistage phénotypique ont récemment été commercialisés dans le but de permettre une détection simple et rapide des carbapénèmases, spécialement celle des EPC, notamment dans le cadre de prélèvements de dépistage:

➤ D'abord des milieux de culture contenant une céphalosporine de 3^{ème} génération (C3G), mis au point pour détecter les bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (par exemple les milieux ChromID ESBL[®], Biomérieux), peuvent se révéler utiles pour détecter les carbapénèmases de classe A et B, mais en aucun cas les carbapénèmases de classe D dont la sensibilité aux C3G est conservée (sauf en cas d'association à une BLSE ou à une

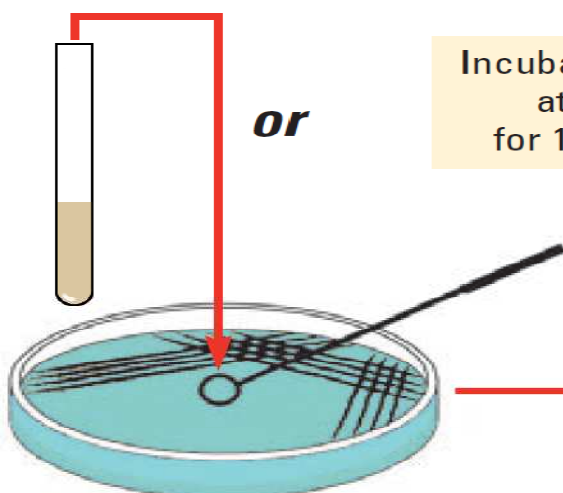
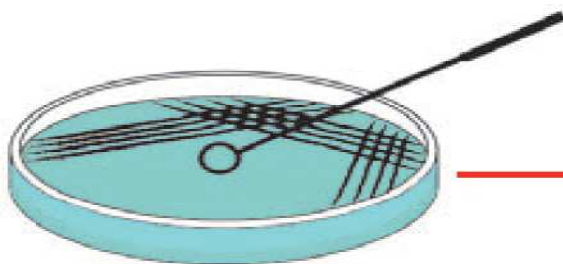
céphalosporinase). Il détecte les bactéries résistantes aux carbapénèmes que si elles présentent une forte résistance aux carbapénèmes. Son principal inconvénient reste donc son manque de sensibilité, car il ne détecte pas les producteurs carbapénémases présentant un faible niveau de résistance aux carbapénèmes, comme on l'observe pour plusieurs MBL ou OXA-48 producteurs

➤ Le deuxième milieu contient une classe des carbapénèmes (test Brilliance CRE®, Thermo Fisher scientifique, Royaume-Uni / test chromID® CARBA agar bioMérieux) figure 18 et 19. Il détecte bien les producteurs CPK et MBL, et la plupart, mais pas tous les producteurs d' OXA-48.

Selon les directives locales *Brilliance CRE Agar* peut être réalisé directement à partir des prélèvements de dépistage rectal, l'échantillon de matières fécales ou d'une colonie isolée préparés sous forme de suspension liquide, à peu près équivalente à la turbidité McFarland 0,5. Le milieu doit être laissé se réchauffer à température ambiante avant l'inoculation. Incuber pendant 18-24 heures à 37 ° C. les Plaques négatives doivent être ré-incubées pendant 24 heures supplémentaires.les colonies roses Pale sont présumés positifs pour les carbapénémases produit par *E. coli* et les colonies bleues pour les carbapénémases produit par KPC.

Sample Processing

Inoculate *Brilliance* CRE plate directly with pea-sized bead or loopful of specimen.

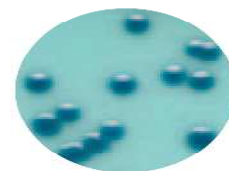


Incubate plates at 37°C for 18–24 hr

Pre-enrich in suitable selective broth prior to inoculation onto a *Brilliance* CRE plate. Use an incubation protocol appropriate to the broth chosen.



Pale Pink
E. coli



Blue
Klebsiella,
Enterobacter,
Serratia and
Citrobacter (KESC)

CRE Positives

Resistant Non-CRE*



White or Colourless
Acinetobacter

* Bacteria with other resistance mechanisms may also produce colonies, for example *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* produce brown colonies with a halo, any such isolate may be clinically significant and should be investigated further

Figure 18. Test Brilliance CRE® Thermo Fisher scientific, Royaume-Uni. [97]

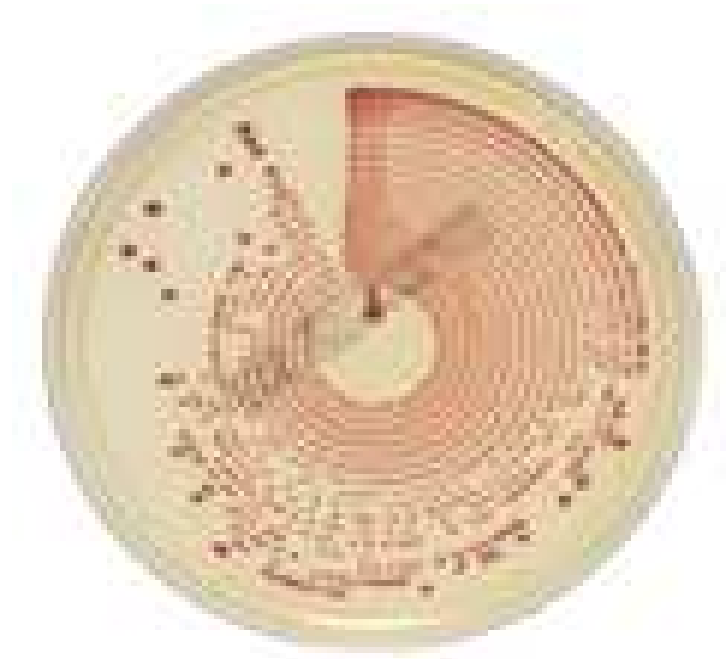


Figure 19. chromID® CARBA (réf. 43861 à 20 plaques de 90 mm) bioMérieux : chromID CARBA est un nouveau média chromogène pour le dépistage des *entérobactéries* productrices de carbapénèmases (CPE), en particulier KPC, VIM et NDM-1 à 18 heure. ^[98]

Enfin, l'un des supports de dépistage les plus récemment développés (SUPERCARBA) contient la cloxacilline, le zinc et l'ertapénème. Il montre une excellente sensibilité et spécificité pour la détection de tout type de producteur carbapénèmases (et pas seulement les isolats résistants de haut niveau aux carbapénèmes). En comparaison avec les deux autres médias (Tableau 7), elle montre également une meilleure sensibilité et spécificité pour la détection de tous les types de producteurs carbapénèmase (y compris le OXA -48 producteur) lorsqu'ils sont présents en faibles quantités dans les selles. ^{[43] [50]}

Tableau 7 : Sensibilité et spécificité des SUPERCARBA, Brillance CRE et CHROMagar KPC médias. La sensibilité a été déterminée pour chaque classe de Ambler carbapénémase. ^[50]

	milieu de sélection		
	SUPERCARBA	Brillance CRE	KPC CHROMagar
Sensibilité (%)	96,5	76,3	43
Spécificité (%)	60,7	57,1	67,8
Sensibilité pour les carbapénémase de classe A	100	85	70
Sensibilité pour les carbapénémase de classe B	92	78,4	58,8
Sensibilité pour les carbapénémase de classe D	100	69,8	11,6

1.4 Carba NP test : ^[40] ^[43]

Très récemment, un milieu spécifique appelé test Carba NP pour l'identification exacte des carbapénèmases (notamment des souches productrices d'OXA-48) a été développé. Ce test biochimique basé sur les propriétés d'acidification générée par l'hydrolyse enzymatique lorsque l'antibiotique (carbapénèmes) est clivé par chacune des enzymes carbapénémase. Si l'un de ces enzymes est présent, le milieu s'acidifie et l'hydrolyse de l'imipénème est détectée par un changement de la valeur du pH de l'indicateur (rouge au jaune / orange). En fait lorsque ce test a été utilisé, la couleur du puits viré du rouge à l'orange ou jaune (figure 20) pour toute souche testée qui produisaient des carbapénèmases, alors que les puits correspondant à des extraits bactériens isolats qui ne produisent pas de carbapénèmases resté rouge, quel que soit leur niveau de sensibilité aux carbapénèmes. La couleur passe du rouge au jaune a commencé dès 5-10 minutes après une incubation de producteurs carbapénèmases. Dans la plupart des cas, l'incubation pendant 30 minutes est suffisante pour obtenir un changement de couleur franche pour les producteurs carbapénèmases.

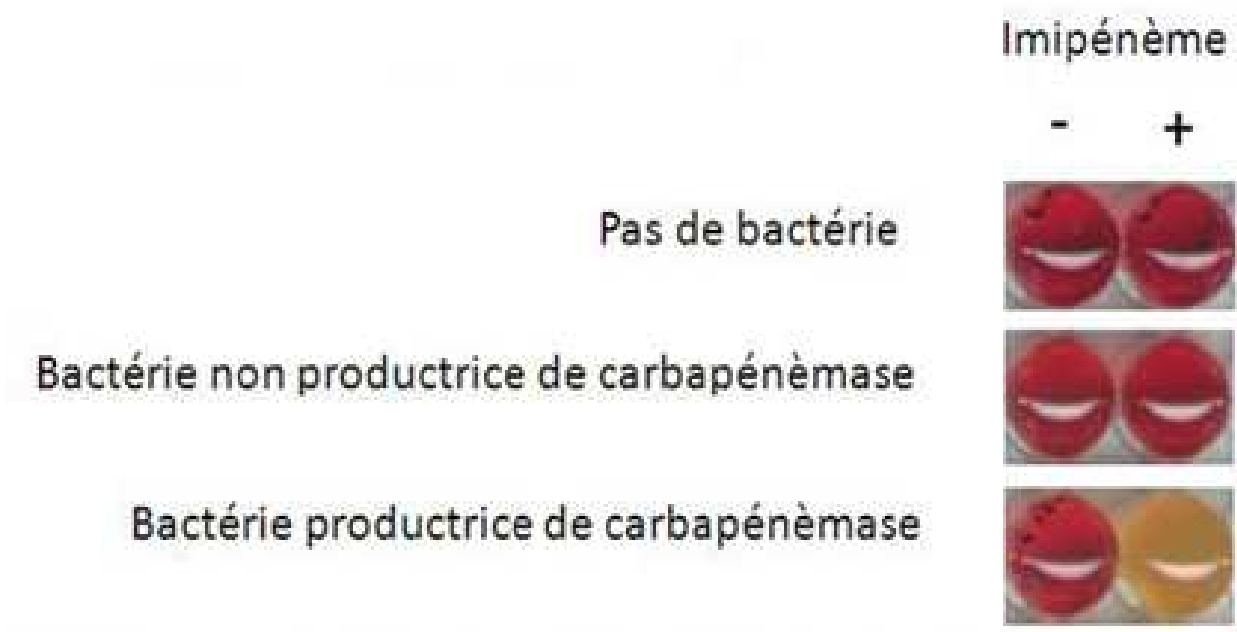


Figure 20. carba np test Pr Nordmann : l'indicateur du ph vire du rouge au jaune/orange lors de la présence d'une carbapenemase. ^[43]

La détection de ces enzymes et donc indirectement des résistances auxquelles elles sont liées se réalisent à partir de bactéries isolées à partir de tous sites infectieux ou à partir des bactéries présentes à l'état de portage. Le résultat est obtenu en moins de 2 heures (versus de 24 à 72 heures actuellement avec d'autres techniques). Une évaluation de ces tests est en cours pour apprécier leur sensibilité directement à partir de sites infectés comme le sang ou les urines.

Le test Carba NP différencie parfaitement les souches productrices des souches non productrices carbapénèmases ou sensibles aux carbapénèmes, mais exprime un large spectre β -lactamase sans activité carbapénémase .

Ce test est spécifique et sensible à 100% lorsqu'il est réalisé à partir de bactéries préalablement isolées . lorsque les résultats ont été comparés avec ceux des méthodes moléculaires, la norme de référence pour l'identification des gènes carbapénèmases. . Il détecte non seulement les carbapénèmases connus (appartenant à la classification d'Amblar : A, B et classes D) chez les entérobactéries, mais doit également identifier pratiquement n'importe quelle nouvelle émergence de carbapénémase, contrairement aux techniques moléculaires .

Cette technique conviviale , peu couteuse et totalement inoffensive (car réalisés sur les bactéries isolées des patients ou sur les produits biologiques : urines...) peut être mise en œuvre dans n'importe quel laboratoire dans le monde entier. En outre, il ne nécessite aucun équipement spécifique et peut même appliquer au lit du malade. Nous croyons que cette technique va bientôt devenir une technique de référence, car il répond à l'exigence clinique d'une méthode d'identification rapide et au faible coût pour les carbapénèmases productrices.

2. Méthodes moléculaires: [8] [9] [14] [40] [45] [51]

[52] [69]

Seules les méthodes moléculaires (PCR ± séquençage ou hybridation sur puces à ADN par technologie PCR-ligase de l'ADN sur microarray (Check-Points) permettent à l'heure actuelle la confirmation, l'identification et la caractérisation de façon précise des carbapénèmases. Ces méthodes sont réalisées en routine dans certains laboratoires cliniques spécialisés ou non, pour pallier aux problèmes de la détection phénotypique des micro-organismes producteurs de carbapénémase. Des kits commerciaux existent et permettent la détection des gènes codant les carbapénèmases, y compris directement à partir des échantillons cliniques. L'évolution récente montre l'apparition de techniques commerciales intéressantes, mais réservées à des laboratoires référents.

Les principaux inconvénients de technologies à base moléculaire pour la détection de carbapénèmases sont leur coût élevé, l'exigence de personnel qualifié et l'incapacité à détecter de nouveaux gènes non identifiés. Ainsi, il y a un besoin urgent d'un test peu coûteux, rapide, sensible et spécifique pour la détection de l'activité carbapénèmases.

2.1 **PCR (polymerase chain reaction) :**^{[46] [101]}

Lorsque la présence d'une carbapénèmase est suspectée, et si une identification précise du gène carbapénèmase (par exemple, type KPC, NDM type VIM ou type OXA-48) est nécessaire surtout pour la recherche à des fins épidémiologiques. La PCR est utilisée pour déterminer la famille de carbapénèmase présente. Ils sont simples ou multiplex techniques de PCR.

L'identification du gène de carbapénèmase par PCR nécessite le séquençage préalable de la région codante entière. Le Clonage de la région autour du carbapénèmase est habituellement réalisé avec la technique "fusil de chasse». Certains laboratoires ont utilisé des hybridations par transfert de colonie de manière à cribler efficacement un grand nombre d'isolats cliniques de gènes carbapénèmase .les Techniques d'hybridation sont également utilisés avec un transfert de Southern pour déterminer si le gène carbapénèmase se trouve sur plasmide ou sur chromosome .

La Polymerase Chain Reaction (PCR) consiste à rechercher des gènes codant pour les carbapénèmases (KPC, OXA-48, NDM-1, IMP, VIM) par l'amplification spécifique d'une séquence cible . Les réactions d'amplification des gènes codant pour les β -lactamases sont réalisées avec un couple d'amorces spécifiques (Eurogentec) dans un thermocycler de type Biométra T3 (Biolabo Scientific Instruments) en présence de *Taq* DNA Polymerase (Roche[®]) en respectant les conditions d'utilisations spécifiées par le

fournisseur. Les amplicons sont ensuite purifiés et séquencés. Les séquences sont comparées à celles déposées dans une banque de données.

La Caractérisation d'une nouvelle carbapénèmase n'est pas complète jusqu'à ce qu'une séquence moléculaire est obtenue et une analyse fonctionnelle de l'hydrolyse et de profils d'inhibition est réalisée avec la protéine purifiée.

Le Tableau 8 énumère une sélection d'amorces publiées qui ont été utilisées à la norme du technique PCR pour détecter toutes les familles et sous-groupes de carbapénèmases connus à ce jour.

Tableau 8 : Amorces de PCR pour la détection des β -lactamases. [46]

Enzyme family	Primer	Primer sequence (5'-3')
Class A carbapenemases		
NMC	NMC1	GCATTGATATACCTTTAGCAGAGA
	NMC4	CGGTGATAAAATCACACTGAGCATA
SME	IRS-5	AGATAGTAAATTTTATAG
	IRS-6	CTCTAACGCTAATAG
IMI	IMI-A	ATAGCCATCCTTGTTTAGCTC
	IMI-B	TCTGCGATTACTTTATCCTC
KPC	KPC forward	ATGTCACTGTATCGCCGTCT
	KPC reverse	TTTTCAGAGCCTTACTGCCC
GES	GES-C	GTTTTGCAATGTGCTCAACG
	GES-D	TGCCATAGCAATAGGCGTAG

Class D oxacillinases		
Subgroup 1 (OXA-23)	P5	AAGCATGATGAGCGCAAAG
	P6	AAAAGGCCCATTTATCTCAA
Subgroup 2 (OXA-24)	Forward	GTACTAATCAAAGTTGTGAA
	Reverse	TTCCCCTAACATGAATTTGT
Subgroup 3 (OXA-69)	OXA-69A	CTAATAATTGATCTACTCAAG
	OXA-69B	CCAGTGGATGGATGGATAGATTATC
Subgroup 4 (OXA-58)	Pre-OXA-58prom+	TTATCAAAATCCAATCGGC
	PreOXA-58B	TAACCTCAAACCTTCTAATTC
Subgroup 5 (<i>Shewanella</i> OXA-55)	OXA-55/1	CATCTACCTTTAAAATTCCC
	OXA-55/2	AGCTGTTCTGCTTGAGCAC
Subgroup 6 (OXA-48)	OXA-48A	TTGGTGGCATCGATTATCGG
	OXA-48B	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC
Subgroup 7 (OXA-50)	S	AATCCGGCGCTCATCCATC
	AS	GGTCGGCGACTGAGGCGG

Subgroup 8 (OXA-60)	OXA-60 A	AAAGGAGTTGTCTCATGCTGTCTCG	
	OXA-60 B	AACCTACAGGCGCGCTCTCACGGTG	
Multiplex PCR for OXAs in <i>A. baumannii</i>	OXA-51-like	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	
		TGGATTGCACTTCATCTTGG	
	OXA-23-like	GATCGGATTGGAGAACCAGA	
		ATTTCTGACCGCATTTCAT	
	OXA-24-like	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	
		AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	
	OXA-58-like	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	
		CCCCTCTGCGCTCTACATAC	
	Class B metalloenzymes		
	IMP-1	Forward	TGAGCAAGTTATCTGTATTC
		Reverse	TTAGTTGCTTGGTTTTGATG
	IMP-2	Forward	GGCAGTCGCCCTAAAACAAA
Reverse		TAGTTACTTGGCTGTGATGG	

VIM-1	Forward	TTATGGAGCAGCAACCGATGT
	Reverse	CAAAGTCCCGCTCCAACGA
VIM-2	Forward	AAAGTTATGCCGCACTCACC
	Reverse	TGCAACTTCATGTTATGCCG
SPM-1	SPM-1F	CCTACAATCTAACGGCGACC
	SPM-1R	TCGCCGTGTCCAGGTATAAC
GIM-1	GIM-1F	AGAACCTTGACCGAACGCAG
	GIM-1R	ACTCATGACTCCTCACGAGG
SIM-1	SIM1-F	TACAAGGGATTCCGGCATCG
	SIM1-R	TAATGGCCTGTTCCCATGTG
Integron PCR	5' CS	GGCATCCAAGCAGCAAG
	3' CS	AAGCAGACTTGACCTGA

Une technique de PCR réalisée directement sur les colonies peuvent donner des résultats dans les 4-6 h (ou moins lors de l'utilisation en temps réel de la technologie PCR) avec une excellente sensibilité et spécificité.

Intéressant également, certains auteurs ont développé des techniques de PCR temps réel capables de faire du dépistage fécal. Mais, on attend toujours le test commercial de PCR en temps réel, unitaire, et capable de détecter les principaux gènes de carbapénèmases à partir de n'importe quel prélèvement.

Voici quelques exemples de PCR en temps réel commerciales :

- ✓ MBL : hplex®
 - MBL ID Multiplex PCR-Elisa (VIM, IMP) échantillons cliniques sensibilité 98%, spécificité 98,6% Long et fastidieux
- ✓ New NucliSENS EasyQ KPC test : Sensibilité 100% sur isolats
- ✓ PCR temps réel sur selles inoculées 4 heures : Naas T sur NDM-1 et OXA-48
 - NDM-1: détection de 10 à 30 CFU pour 100 mg de selles
 - OXA-48 : détection de 10 à 50 CFU pour 100 mg de selles

2.2 ***Biopuces à ADN : technologie de l'ADN***

des check-points :

Une puce à ADN est un support rigide (verre ou nylon) de quelques centimètres carrés, sur lequel de courtes séquences d'ADN ont été déposées. Ces courtes séquences sont nommées des "sondes" correspondant à des oligonucléotides de synthèse ou à des produits de PCR. Les sondes ont la particularité d'avoir été choisies de manière à être spécifique d'un seul et unique gène. Ce microdispositif est mis au contact des ARNs extraits des échantillons à analyser appelés des "cibles". Ces cibles sont marquées par incorporation de radioéléments ou de fluorochromes. Après acquisition des images d'hybridation, la quantification des signaux d'hybridation reflète le niveau d'expression, dans l'échantillon initial, de chacun des gènes représentés sur la puce (figure 21).

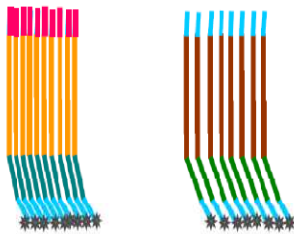
Test



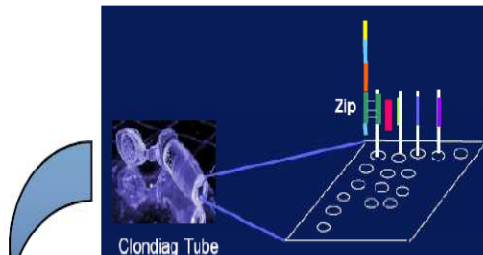
Extraction ADN à partir de colonies



Reconnaissance des cibles et ligation



Amplification



Hybridation sur micropuce ADN

Détection, Lecture (1)

Analyse des images et Interprétation (1)



V. Leflond, Clichy, 2012

Figure 21. Schéma simplifié des étapes de la réalisation d'un test **biobus ADN** pour la détection des carbapénèmases.

Les biopuces à ADN ont été mises au point ces dernières années. Parmi celles-ci, la puce Check MDR CT102 commercialisée en France par la société Biocentrics, permet la détection simultanée des BLSE de type TEM, SHV et CTX-M et des carbapénèmases de type KPC, OXA-48, VIM, IMP et NDM-1. Cette biopuce à ADN a démontré une sensibilité et une spécificité de 100% pour la détection des gènes *blaVIM*, *blaIMP*, *blaNDM* et *blaOXA-48*, alors qu'elles sont de 100% et 85% respectivement pour le gène *blaKPC*.

L'utilisation de cette biopuce à ADN en routine est encore inaccessible pour la plupart des laboratoires de microbiologie du fait du coût élevé de l'analyse. Toutefois, son utilisation est plus que jamais justifiée dans les centres nationaux de référence et les laboratoires experts où elle permet d'obtenir un résultat rapide (environ 6 h de temps technique) ouvrant ensuite la voie à une prise en charge optimale des patients porteurs de telles bactéries.

2.3 Focalisation isoélectrique (IEF): [9]

Il s'agit d'une méthode de séparation des protéines (enzymes) d'un mélange basée sur la différence du point isoélectrique (pI) qui varie de 1 à 12. L'électrophorèse est pratiquée sur un support dans lequel un gradient de pH est préétabli. Les protéines (enzymes) déposées migrent vers l'anode ou vers la cathode selon leur charge, mais au fur et à mesure de leur déplacement, le pH extérieur varie, ainsi que leur propre charge figure 22. ^[99]

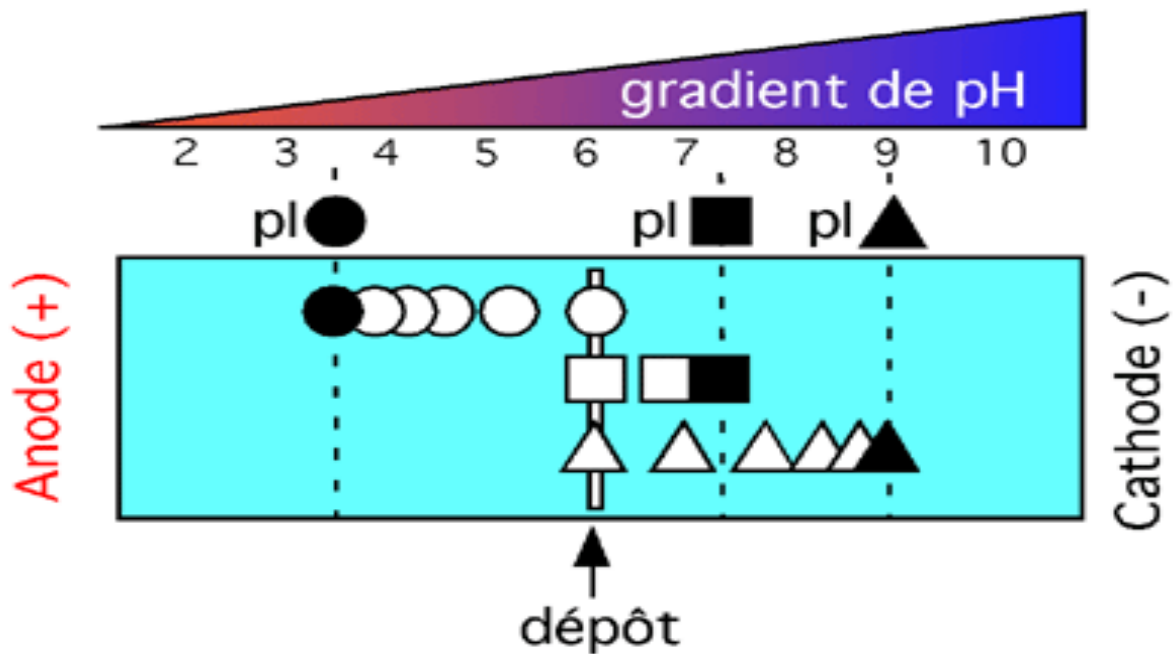


Figure 22. Focalisation isoélectrique^[99]

Quand la charge nette est nulle, la protéine ne se déplace plus et focalise à l'endroit où le $\text{pH} = \text{pI}$. Le gradient de pH est créé en utilisant des ampholines, qui sont des ampholytes supports : ce sont des mélanges de molécules de faibles masses molaires, donc très mobiles, et comportant chacune plusieurs groupements acide carboxylique et amine. Par conséquent le pôle anodique attire les ampholytes acides, ayant un pI bas, le pôle cathodique attire les ampholytes alcalins, ayant un pI haut. Il se crée ainsi un gradient de pH qui augmente de l'anode à la cathode. La révélation s'effectue par la nitrocéphine, céphalosporine chromogène dont l'hydrolyse par les carbapénemases s'accompagne d'une coloration orangée. La détermination du pI de la carbapénémase exprimée par la souche à identifier va permettre de se focaliser sur une famille enzymatique. L'IEF est particulièrement utile pour la détection de plusieurs β -lactamases présents dans un isolat. Le temps nécessaire à la réalisation de la manipulation est estimé à environ 3 heures. [9]

3. Méthodes enzymatiques : [8] [9] [14] [45] [53]

Des méthodes rapides de dépistage de l'activité enzymatique des carbapénèmases sont proposées depuis peu, utilisant soit des substrats chromogènes, soit la spectrophotométrie, soit l'acidimétrie et également la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Ces techniques sont prometteuses et pourraient être un outil important dans la détection précoce des carbapénèmases à partir de colonies et pourquoi pas à partir de certains prélèvements.

Actuellement, l'ensemble de ces méthodes, isolées ou combinées selon les possibilités propres à chaque laboratoire de Bactériologie, permet de déclencher une alerte rapidement, quitte à revenir en arrière, si la confirmation s'avère négative. Il vaut mieux rester en alerte et pour cela, chaque méthode peut trouver sa place au gré des possibilités locales, d'où la nécessité de les pratiquer régulièrement avec des souches de référence.

3.1 Mesure spectrophotométrique de l'activité carbapénémase :

La Détection de l'activité des carbapénèmases peut être faite en utilisant un spectrophotomètre UV, qui est disponible dans de nombreux laboratoires de microbiologie. Il est basé sur plusieurs étapes, y compris: (i) une culture de 18 heures (qui peut être abrégé dans certains cas, à 8 h), (ii) une étape d'extraction de protéines, et (iii) la mesure de l'hydrolyse imipénème l'aide

d'un spectrophotomètre UV. Elle a été montrée que cette technique basée sur la spectrophotométrie a une sensibilité de 100% et une spécificité de 98,5% pour détecter tout type d'activité carbapénèmases.

Cette technique n'est pas cher et peut différencier précisément parmi les producteurs carbapénèmases, les non- producteurs carbapénèmases et les isolats non sensibles aux carbapénèmes [défaut de la perméabilité de la membrane externe, la surproduction de céphalosporinases et / ou β -lactamases à spectre étendu (ESBL). Il peut être mis en œuvre dans un laboratoire de référence, mais cette technique nécessite encore du temps.

3.2 Spectrométrie de masse MALDI-TOF :

Récemment, l'utilisation de la spectrométrie de masse, sur la base de l'analyse de la dégradation d'une molécule carbapénème pour la détection de l'activité carbapénémase, a été proposée. Mais cette présente technique doit être évaluées, en outre la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure 23 et 24), assistée par une matrice d'ionisation et par un analyseur laser de désorption à temps de vol, est de plus en plus utilisé dans le laboratoire de bactériologie de diagnostic.

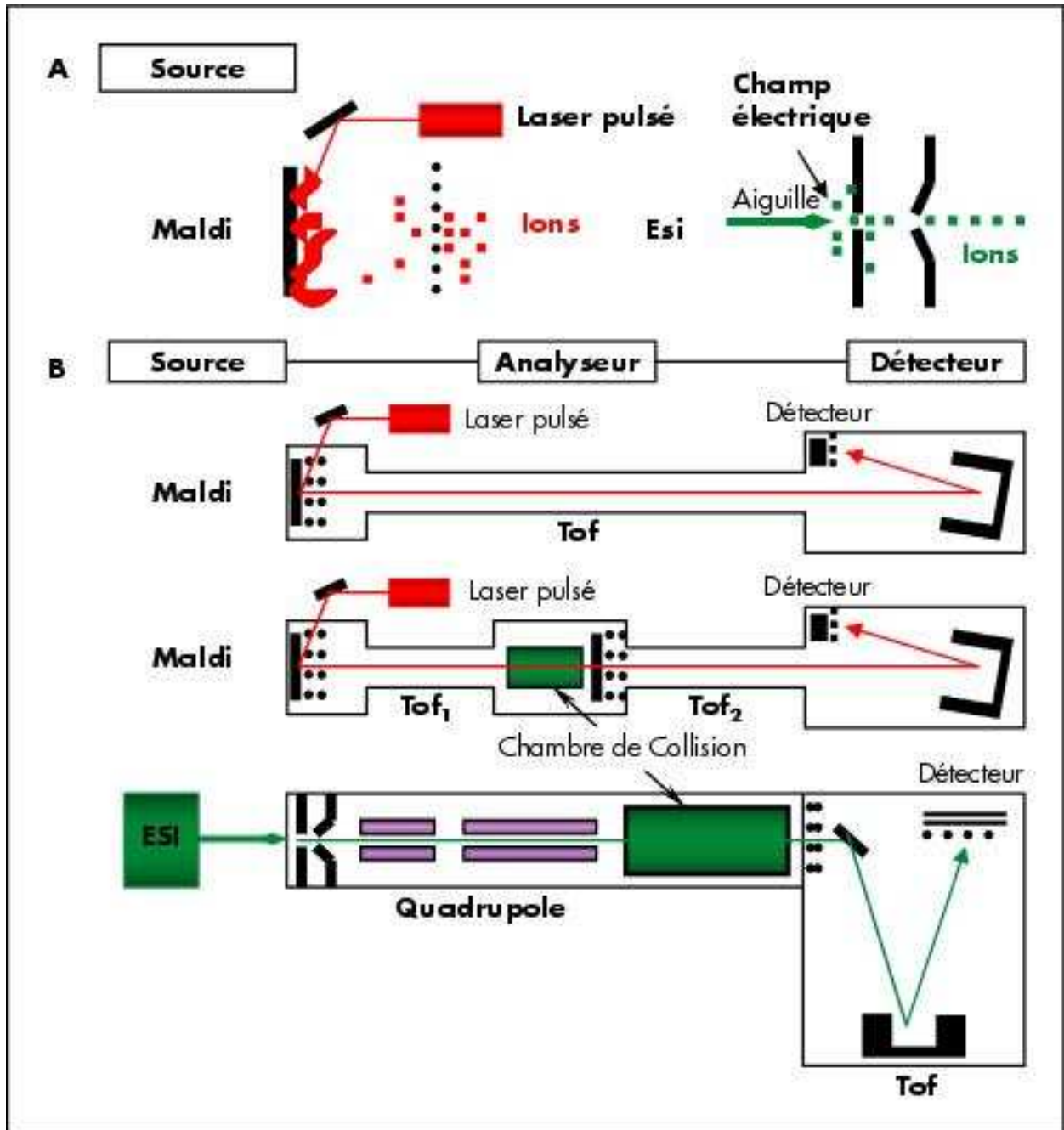


Figure 23. Principes de la spectrométrie de masse Maldi-ToF, Maldi-ToF-ToF, Esi-Q-ToF. **A)** Sources d'ionisation. Dans la source Maldi, les protéines ou peptides sont co-cristallisés avec une matrice puis désorbés et ionisés sous l'effet d'une source laser. Dans la source ESI, l'échantillon protéique en solution est pulvérisé en gouttelettes chargées à l'extrémité d'une aiguille sous l'effet d'un champ électrique. **B)** Les différents spectromètres de masse. Maldi-ToF: Après la désorption/ionisation de la plaque Maldi, les ions sont accélérés dans un tube de vol et séparés selon le rapport masse/charge (m/z) avant d'être déviés vers le détecteur. Maldi-ToF-ToF: L'instrument ToF-ToF incorpore une chambre de

collision entre deux tubes ToF. Les ions de m/z donné sont sélectionnés dans la première section ToF, fragmentés dans la chambre de collision et les différents fragments séparés dans le deuxième tube ToF. Ceci donne accès à des informations de séquences (spectrométrie de masse en tandem). Esi-Q-ToF : Dans cette configuration, les ions générés par la source Esi sont séparés selon leur masse par le premier analyseur quadrupole avant d'être fragmentés dans la chambre de collision et séparés dans le tube ToF. Là encore, on obtient des informations de séquences sur les peptides sélectionnés par le quadrupole.^[100]

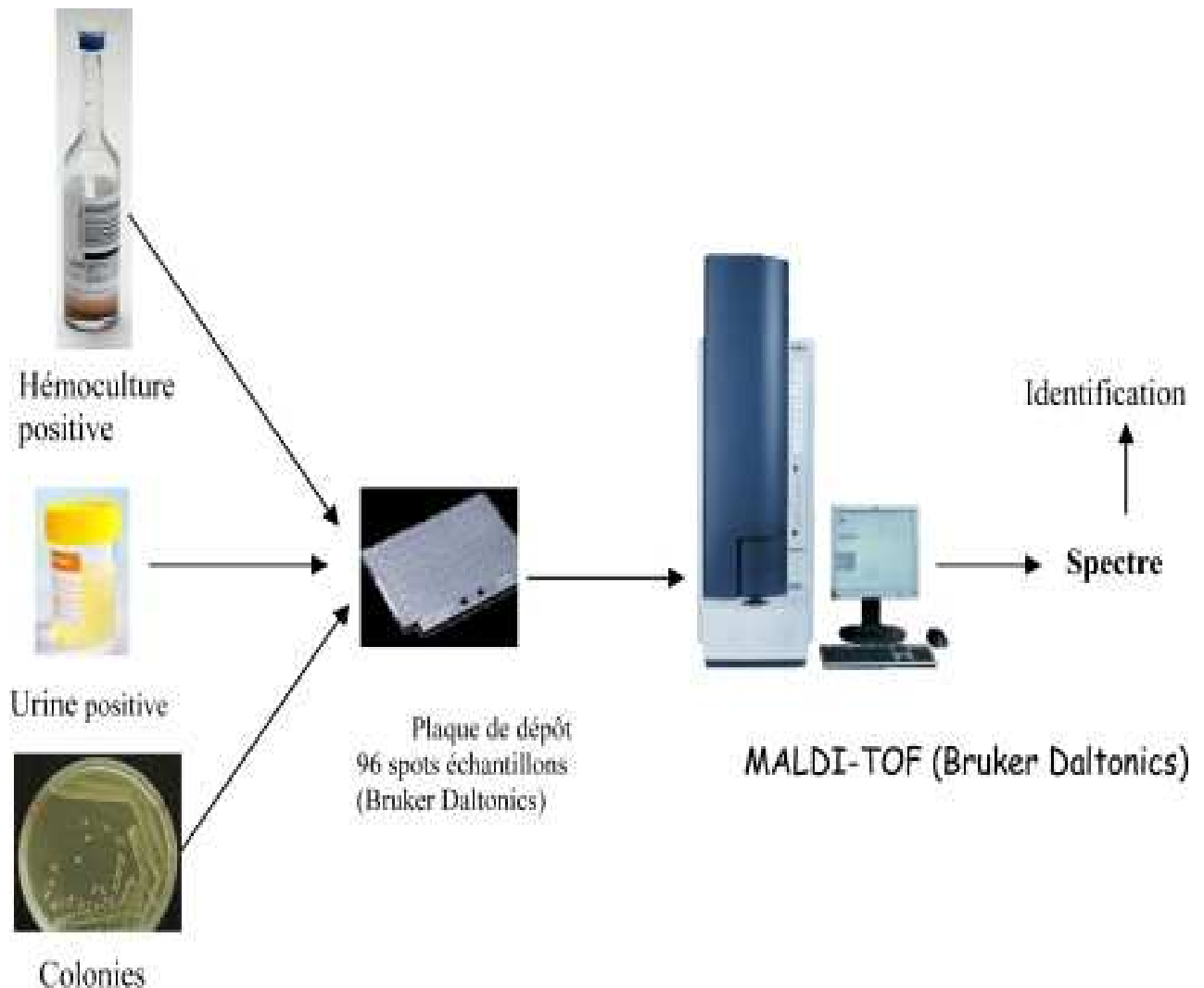


Figure 24. Chaîne d'identification par *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight* (MALDI-TOF) à partir de colonie, d'échantillon d'hémocultures ou d'urines positives à la coloration de Gram.

3.3 Acidimétrie :

L'inactivation enzymatique (perte de l'activité antibiotique) survient lors de l'ouverture du cycle β -lactame (structure de base des β -lactamines retrouvée dans tous les sous-groupes). La première étape de la réaction enzymatique variera en fonction du substrat (affinité) tels pénicilline G, oxacilline, ampicilline, carbénicilline, pipéracilline, céfalotine, céfuroxime, céfotaxime, imipénème.

Cette étape de formation d'un complexe enzyme-substrat sera fonction des constantes cinétiques de l'enzyme étudiée telles l'affinité appréciée par le K_m ou K_i , ou encore la vitesse d'hydrolyse exprimée, le plus souvent, en V_{max} Le produit de la réaction aboutit à la formation de composés acides tels acide pénicilloïque ou céphalosporoïque.

La Lecture s'effectue en 2 heures à 37°C La Sensibilité de ce test est de 100% et la spécificité est de 100%

Le test beta-lacta[®] (Bio-Rad) « figure 24 » développé pour détecter la résistance aux C3G sur colonies L'évaluation a montré que ce test fonctionne aussi avec les KPC et MBL. Pour les OXA-48 isolées, les résultats sont positifs lent ou douteux. Test très bon sur la détection directe des BLSE à partir des urines.

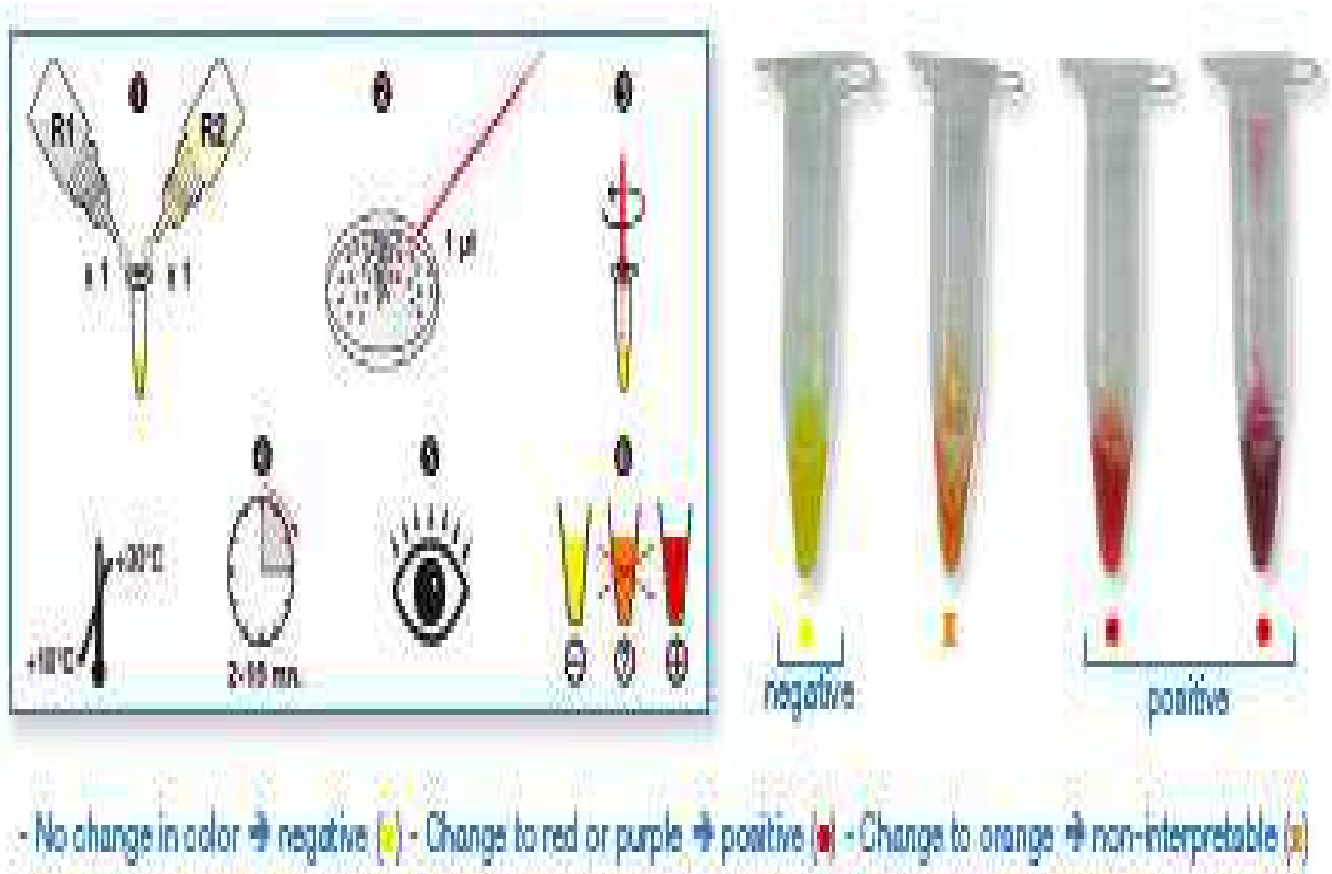


Figure 25. test beta-lacta® (Bio-Rad) À partir de colonies dans un tampon de lyse (30') puis centrifugation. 30 µl du surnageant avec le substrat avec ou sans inhibiteurs et un indicateur de pH. Lecture en 2 heures à 37°C Sensibilité 100% et spécificité 100%.^[53]

X. Schéma général pour le dépistage et la confirmation des carbapénèmases au laboratoire :

La Prévention de la propagation des producteurs carbapénèmases repose sur la détection précise des patients colonisés à un stade précoce de l'hospitalisation ou à l'admission, soit à l'hôpital ou à une unité spécifique.

1. Personnes ciblées : [48] [49] [68]

Le dépistage doit inclure au minimum les patients «à risque», tels que ceux en unités de soins intensifs, les greffés et les sujets immunodéprimés, les patients dans les services : d'onco-hématologie, des grands brules et ceux qui sont transférés à partir de n'importe quel hôpital étranger ou d'hôpitaux non étrangers, mais connus pour faire face à un risque élevé de transport de producteurs carbapénèmases.

Les Patients dépistés doivent être maintenus à l'isolement strict avant l'obtention des résultats de l'examen préalable (au moins 24-48 heures).

2. Quel site de prélèvement : [48] [49] [64] [68]

2.1 *Prélèvement d'échantillons pour le dépistage du portage asymptomatique:*

On peut recourir à un échantillon de selles ou à un écouvillonnage rectal ou anal pour dépister les souches productrices de carbapénèmases :

- Écouvillonner autour de l'orifice anal extérieur. S'il n'y a pas de matières fécales sur l'écouvillon, insérer ce dernier quelques millimètres dans le rectum jusqu'à l'obtention de matières fécales.
- Si le patient a subi une colostomie, prélever l'échantillon à partir des selles.
- Étiqueter soigneusement chaque échantillon

Attention: le frottis inguinal, périnéal ou l'urine ne constituent pas des prélèvements de choix pour la détection du portage des souches productrices de carbapénèmases.

2.2 ***Prélèvement d'échantillons pour***

l'identification du mécanisme de résistance :

On utilise une souche isolée d'un prélèvement clinique pour l'identification du mécanisme de résistance des souches productrices de carbapénèmases. L'échantillon clinique peut être obtenu de tout site clinique (plaies, liquide de drains, expectorations ou aspirations bronchiques, urines, etc.

N.B : des prélèvements systématiques à visé de screening peuvent être effectués au niveau de ces différents sites, mais leur contribution pour la détection des carbapénèmases reste difficile à établir.

3. **Tests:** [48] [49] [68]

Les tests de dépistage réalisés sont variables en fonction du site de prélèvement. Le tableau 9 suivant indique comment et quand utiliser chacun des tests précédemment décrits.

Tableau 9 : Quand et comment utiliser les tests de dépistage pour carbapénémases.

	Tests enzymatiques	Tests moléculaires	MS-Tof	Milieux selectifs	Hodge Test	Tests phénotypiques
prélèvements	+/-	+	ND	+	-	-
selles	-	+	-	++	-	-
Colonies	+	+	+		+	+
ATB	+	+	+		+	+
délai	≤ 3 h	≤ 6 h	≤ 4 h	24 h	24-48 h	24-48h

ATB = Antibiotique(s)

MS-Tof = Maldi-Tof

Nous proposons l’algorithme suivant pour la détection des producteurs carbapénémases :

(I) **le dépistage des souches infectantes:** réaliser le Carba NP tests (Carbapenemase Nordmann-Poirel) sur des colonies isolées. S’il est positif, l’identification moléculaire des gènes peut être effectuée principalement pour des raisons épidémiologiques.

(li) **Le criblage des transporteurs:** dépister des isolats résistants aux carbapénèmes en utilisant par exemple SUPERCARBA moyenne, suivie par l'épreuve Carba NP (Carbapenemase Nordmann-Poirel) peut être effectués sur des colonies sélectionnées. Si ce dernier test est positif, l'identification moléculaire des gènes, principalement pour des raisons épidémiologiques.

La stratégie pour le dépistage et l'identification peut être exécutée différemment selon les moyens disponibles et propres de chaque laboratoire. Le schéma suivant résume les différents tests qui peuvent être utilisés :

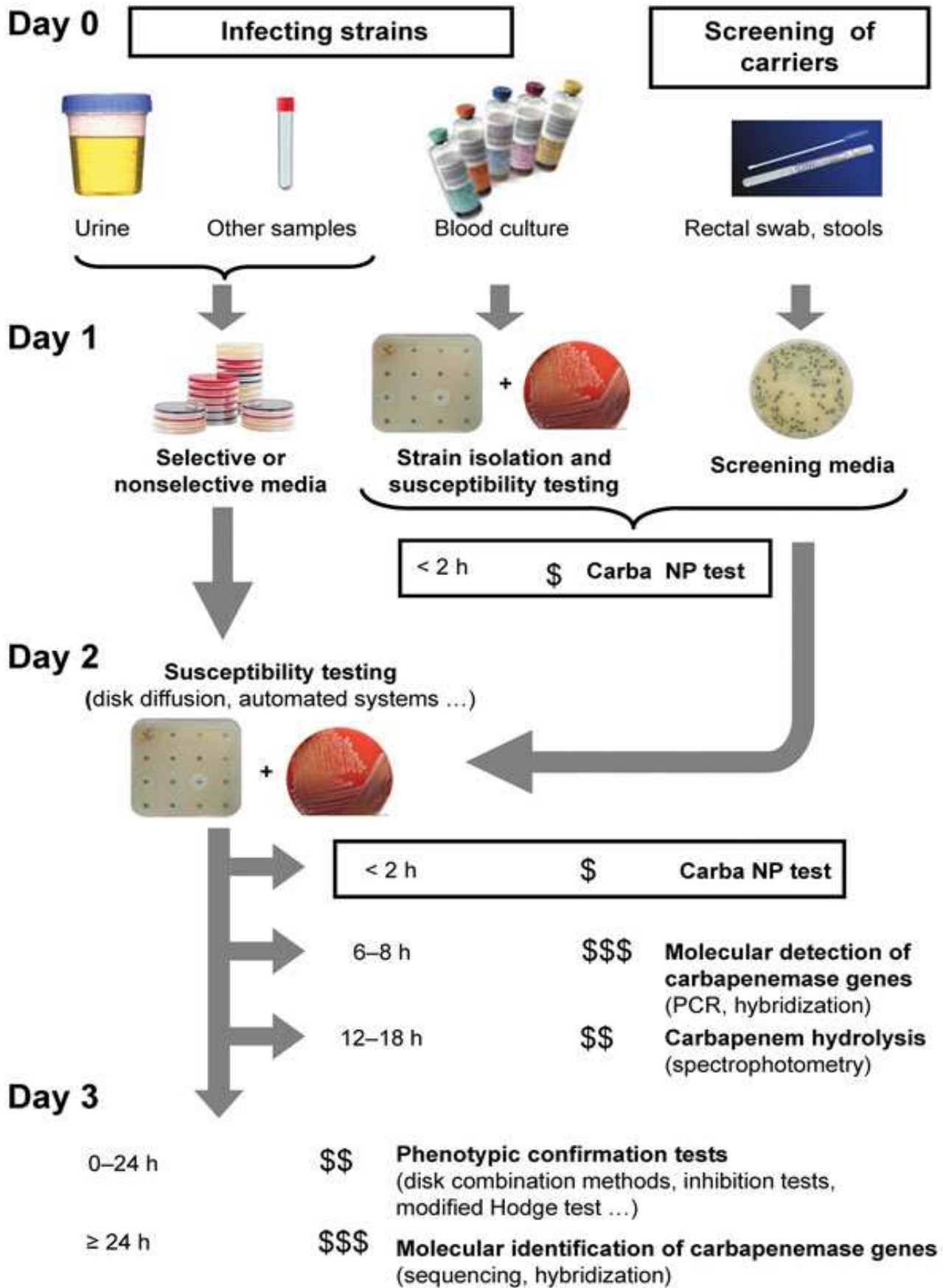


Figure 26. Stratégie pour l'identification des producteurs carbapénèmases. Le temps nécessaire pour effectuer le test est indiqué avant chaque test. Le nombre de flacons indique le degré de spécialisation nécessaire pour effectuer le test, le nombre de \$ indique le coût relatif de chaque test. ^[43]

Ce schéma proposé pour la détection des producteurs carbapénèmases présente plusieurs avantages. Elle conduira à une identification rapide des producteurs carbapénèmases, ce qui permet la gestion des antibiotiques adéquats, ceci est hautement urgent en raison de la pénurie actuelle de nouveaux antibiotiques. Elle permettra d'éviter le développement d'épidémies nosocomiales dues à des bactéries multirésistantes qui représentent une des menaces médicales les plus inquiétantes.

XI. Recommandations pour la prévention des éclosions d'entérobactéries productrices de carbapénèmases et leurs prises en charge : [42] [54] [55]

Chaque établissement de soins de santé devrait se doter d'un programme de prévention et de contrôle des organismes antibiorésistants. Considérant :

- l'augmentation rapide de l'incidence des bactéries productrices de carbapénèmases dans le monde;
- leur prévalence élevée dans les hôpitaux de certains pays,
- La capacité de ces souches à transmettre leurs gènes de résistance à d'autres espèces et à provoquer des éclosions en milieux de soins;
- le risque élevé de décès des patients ayant une bactériémie à carbapénèmases, en comparaison à ceux infectés par d'autres germes .

- Le choix thérapeutique limité pour traiter les patients infectés par ces bactéries;

- la difficulté de définir le profil des patients à risque chez lesquels un dépistage doit être effectué dès l'admission.

Les bactéries productrices de carbapénèmases, considérées comme « hautement résistantes », doivent faire l'objet d'une surveillance particulière, afin de limiter leur émergence et leur diffusion. Pour cela, des mesures de prévention et de contrôle doivent être établis et mises en application dans les milieux de soins aigus concernant tout particulièrement les entérobactéries productrices de carbapénèmases, du fait du caractère émergent de leur résistance, de leur pouvoir de diffusion épidémique et de leur pathogénicité .

L'approche doit être pluridimensionnelle et intégrer deux composantes pour une situation devenue endémique : l'amélioration des précautions dites standard et la rationalisation de la consommation des antibiotiques et de leur prescription .

1. Mesures standard: [2] [58] [60] [63] [65] [75]

Il a été démontré que l'application rigoureuse de mesures de détection précoce, de prévention et de contrôle s'est avérée efficace pour prévenir la transmission des entérobactéries productrices de carbapénèmases et contrôler les éclosions (Calfée D et Jenkins SG 2008; Kochar S *et al.*, 2009; Munoz-Price LS *et al.*, 2010). Cette section présente donc les mesures de prévention et contrôle à appliquer dans les milieux de soins aigus en considération des évidences scientifiques disponibles sur leur indication et leur efficacité.

1.1 Intra-installation de communication : [58] [61]

La Mise en œuvre rapide des mesures de contrôle nécessite une collaboration étroite entre le personnel de laboratoire clinique, le personnel de prévention des infections et des cliniciens d'où la nécessité de mettre en œuvre des mesures visant à assurer une communication rapide entre eux quand une entérobactérie productrice de carbapénèmase est détectée dans le prélèvement d'un patient. On peut suivre les lignes de communication ci-dessous:

- ✓ Communiquez avec le patient et sa famille pour leur expliquer les motifs des précautions supplémentaires, tout en protégeant la vie privée du patient.

- ✓ b. Si les patients de l'unité ou de l'étage touché doivent être transférés, avisez l'établissement de soins de santé ou le service d'accueil qu'ils proviennent d'une unité ou d'un étage touché par une éclosion et que chacun d'entre eux doit faire l'objet de précautions supplémentaires jusqu'à ce que l'on détermine qu'il n'est plus porteur d'entérobactéries productrices de carbapénèmases.

- ✓ Maintenez la communication avec les experts et les réseaux locaux. Les établissements de soins de santé qui n'ont pas l'expertise ou les ressources nécessaires pour prendre en charge l'éclosion d'entérobactéries productrices de carbapénèmases peuvent envisager de demander l'aide du bureau de santé publique local, des réseaux régionaux de contrôle des infections ou d'un centre hospitalier universitaire.

- ✓ Communiquez avec la direction et le personnel de l'établissement chaque jour pour le tenir au fait des progrès de l'éclosion.

- ✓ Le statut du patient porteur d'entérobactéries productrices de carbapénémase doit être communiqué au moment du transfert (utiliser un formulaire de transfert entre établissements) à l'établissement de santé de réception dont l'admission ne doit pas être refusée uniquement sur la base de l'état de la CRE. Si un patient est identifié par la CRE après le transfert à un autre établissement de santé, l'installation de réception doit être informée des résultats de laboratoire.

1.2 **Formation et Éducation :** ^[58] ^[61]

- Offrez une formation interne dans l'unité et/ou l'étage touché et à d'autres services ou à l'échelle de l'hôpital au besoin.

- Mettre en œuvre des mesures visant à éduquer le personnel et assurer la conformité avec les établissements de soins prolongés et la prévention des infections CRE-spécifique , par exemple des feuillets d'information à l'intention du personnel de soins de santé (EPC) et feuillets d'information à l'intention des patients et des visiteurs.

1.3 **Hygiène personnelle du staff :** ^[58] ^[61] ^[67] ^[70]

L'observance de ces mesures est un enjeu de taille, car elles ne seraient respectées que dans 60 % des cas .

➤ **Hygiène des mains**

Se laver les mains avant d'entrer et après avoir quitté la chambre du patient, quels que soient le patient et le contact prévu.

Utilisez des désinfectants pour les mains à base d'alcool (solution hydroalcoolique si les mains ne sont pas visiblement souillées) ou avec du savon et de l'eau. ^[67]

➤ **Equipement de protection individuelle (EPI) pour le personnel de santé entrant dans la chambre du résident :**

L'équipement de protection individuelle doit être porté pendant de contact prévu avec les fluides corporels tels que sécrétions et excréments ainsi que le contact avec l'environnement du patient. Cela concerne principalement les soins infirmiers, les services environnementaux, laboratoire, cuisine.

Utiliser des gants pour s'occuper du patient.

- Enlever les gants avant de quitter la chambre du patient.

- Jeter les gants dans les ordures ménagères et laver les mains immédiatement.

A noter que les gants doubles ne sont pas obligatoires.

La surblouse est nécessaire lorsque il ya de nombreux contacts avec l'environnement du passaient ; par exemple : nettoyage des selles, changement des draps.

- Cette surblouse doit être enlevée et placée dans un récipient « linge sale » ou dans une poubelle ordinaire, le cas échéant, avant de quitter la chambre du patient .

- Là aussi, les gants doivent être enlevés et les mains laver .

En cas d'éclaboussure ou de pulvérisation de fluide corporelle, le port de protection des yeux et masque est obligatoire^[67]

1.4 Nettoyage et désinfection de l'environnement : [58] [61] [74]

Le nettoyage et la désinfection des chambres et équipements de soins des patients

Reconnus porteurs doivent être réalisés selon la procédure requise :

- Mettre l'accent sur le nettoyage et la désinfection des surfaces à proximité du patient et des zones High-touch par exemple côtés de lit et commodes de chevet) .

- Utilisez des agents de nettoyage et désinfection enregistrés tous en suivant les instructions du fabricant (dilution, application et temps de contact) pour maîtriser leurs utilisations.
- Utiliser du matériel uniquement réservé au patient lorsque cela est possible.
- Nettoyer et désinfecter les appareils réutilisables après chaque utilisation.

1.5 **Recommandation pour le laboratoire :**

Les laboratoires devraient reconnaître que le délai d'exécution est une question cruciale pour la prévention de la transmission des organismes antibiorésistants. Les professionnels en prévention des infections (PPI) et leurs laboratoires devraient être dotés de systèmes de signalement qui les avisent des cas soupçonnés des EPC avant d'obtenir la confirmation. Le laboratoire devrait recourir à des méthodes qui minimisent le délai d'exécution du dépistage des échantillons renferment les organismes antibiorésistants. ^{[58] [73]}

1.6 Mesures de contrôle des EPC

importées : [29] [58] [61]

Accueil du patient : le patient rapatrié sanitaire doit être directement admis dans le service concerné par ses soins sans passage par le service des urgences.

Isolement prophylactique : le patient sera placé dans une chambre seule, et les « précautions complémentaires contact » seront instaurées.

Dépistage systématique : un éventuel portage digestif devra être recherché par un écouvillonnage rectal et/ou une coproculture.

1.7 Dépistage précoce des entérobactéries productrices de carbapénèmases : [58] [61]

Chaque fois que des entérobactéries productrices de carbapénèmases sont dépistées, le professionnel en prévention des infections, et la haute direction de l'établissement de soins de santé doivent être avisés pour que tous efforts possibles doivent être déployés pour tenter de déterminer la source des nouveaux cas d'ERC. Chaque nouveau cas devrait faire l'objet d'une investigation. En effet, toute souche de sensibilité diminuée aux carbapénèmes, qu'elle soit isolée dans des prélèvements à visée diagnostique ou à visée dépistage, doit bénéficier d'une analyse phénotypique, puis moléculaire des mécanismes de résistance. En cas de difficulté d'identification de tels mécanismes de résistance, il est conseillé d'envoyer la souche pour identification précise dans un laboratoire spécialisé. L'identification du statut de porteur doit demeurer inscrite dans le dossier médical du patient et dans le système informatique jusqu'à indication contraire du service de prévention des infections, après l'analyse du dossier.

Le dépistage se fait par écouvillonnage rectal ou culture de selles et peut avoir lieu :

➤ Lors de l'admission :

Lors de l'admission d'un patient rapatrié de l'étranger dans un établissement de soins, il est recommandé de mettre immédiatement en place des mesures de prévention complémentaires de type « contact » selon les dernières recommandations de la Société française d'hygiène hospitalière, et de réaliser un dépistage à la recherche d'entérobactéries productrices de carbapénèmases.

➤ En cours d'hospitalisation

Lors de la détection d'une souche productrice de carbapénémase en dehors d'un contexte épidémique, un dépistage large et systématique doit être mis en place après identification précise de la souche et de l'enzyme produite.

En conséquence :

- Tous les patients séjournant sur la même unité qu'un patient colonisé ou infecté par une entérobactérie productrice de carbapénèmases,
- Alors que des précautions contre la transmission par contact n'étaient pas appliquées; tous les contacts étroits des nouveaux cas identifiés doivent faire l'objet d'un dépistage, même s'ils sont sur une autre unité. Les contacts étroits sont les patients qui ont séjourné pendant plus de 24 heures dans la même chambre qu'un porteur d'entérobactérie productrice de carbapénèmases,
- Poursuivre le dépistage de l'unité toutes les semaines, jusqu'à deux semaines suivant l'identification du dernier cas; lorsqu'aucune transmission n'est documentée par les dépistages hebdomadaires, évaluer la pertinence de réaliser des dépistages ponctuels sur les unités à risque jusqu'au congé du patient porteur de l'entérobactérie résistante;
- Lorsqu'un nouveau cas est identifié alors qu'il a reçu son congé et que des mesures d'isolement n'étaient pas mises en place lors de son séjour hospitalier, évaluer la pertinence de réaliser un dépistage des unités à risque.

- *Un système de suivi (préférentiellement électronique) et une base de données des patients visés par un avertissement devraient être mis en place pour aider à les identifier au moment de leur réadmission.*

Durant une épidémie, on devrait procéder au dépistage actif de toutes les personnes qui ont été en contact avec des patients ayant des facteurs de risque communs et on devrait envisager d'effectuer des dépistages de la prévalence à un moment donné dans les unités et les zones où les patients présentent un risque élevé de contracter des entérobactéries productrices de carbapénémases pendant leur séjour dans l'établissement de soins de santé.

1.8 Mesures d'isolement strictes : ^[58] ^[61] ^[69]

La mise en chambre individuelle avec précautions de contact est nécessaire chez les patients colonisés ou infectés par une carbapénémases (pour limiter les transmissions croisées).

Si aucune chambre individuelle n'est pas disponible, la cohorte dans la même chambre avec un autre résident est envisageable. Les Colocataires appropriés sont :

- Les colonisés et/ou infectés par une entérobactérie productrice de carbapénèmase ;
- les patients qui n'ont aucun dispositif invasif , par exemple : sondes urinaires à cathéter , ou dispositifs de drainage ;
- les patients non immunodéprimés et ceux qui ne présentent aucune incontinence de l'urine et les fèces ;
- Les Résidents neutropéniques ne doivent pas partager le même personnel avec les patients diagnostiqués positifs.

Les précautions supplémentaires qui accompagnent cet isolement comprennent :

- *L'usage de matériel et de fournitures réservé au patient ;*
- *Réduire le nombre des personnes qui entrent dans la chambre;*
- *le patient doit rester dans sa chambre sauf s'il requiert des interventions essentielles;*
- *le transfert entre établissements ne devrait être effectué que s'il est nécessaire du point de vue médical. L'établissement de soins de santé d'accueil doit être informé des précautions requises;*

•éviter le transfert au sein de l'établissement dans la mesure du possible; si celui-ci est nécessaire pour des raisons médicales, l'unité ou le service d'accueil doit être avisé des précautions nécessaires;

•chaque personne qui a été en contact avec le patient doit faire l'objet de précautions contre les contacts et d'un dépistage actif.

• le patient doit se laver les mains et porter des vêtements propres avant de quitter la salle .

Il faut aussi signaler qu'un isolement entraîne aussi :

- ✓ Premièrement , un temps passé et un nombre de visites moins fréquent de la part du personnel soignant (de l'ordre de la moitié) du fait des précautions complémentaires .

- ✓ Deuxièmement et probablement en conséquence, on observe chez les patients isolés davantage d'effets indésirables liés aux soins .

- ✓ Troisièmement, l'isolement des patients aurait pour conséquence d'entraîner davantage de syndromes dépressifs .

- ✓ Enfin, le fait d'isoler un patient entraîne un allongement de sa durée de séjour avant transfert dans un autre service et un allongement des délais avant examen programmé.

1.9 Ergothérapie et physiothérapie du patient :^[58] ^[61]

Pour les patients avec des sécrétions et/ou excréments incontrôlés (y compris les résidents incontinents), tous les traitements de réadaptation et autres activités devraient être fournis dans la chambre de ces derniers, si leurs bien-être ne sont pas compromis.

Les Thérapeutes, techniciens et tous les autres membres du personnel qui fournissent ces soins et services doivent suivre les mesures de prévention des infections lors de la prestation de services dans la chambre du patient, en particulier:

- Se laver les mains avant d'entrer et après avoir quitté la chambre du patient;
- Porter des gants pour tout contact avec le patient ou son environnement .

- Porter une surblouse avant tout contact prévu avec le patient ou son l'environnement ;

- Utiliser des équipements jetables non critiques, ou instruments et dispositifs dédiés au patient ou à usage unique lorsque cela est possible.

- Nettoyer et désinfecter les instruments et les dispositifs immédiatement après utilisation.

Si le traitement ne peut être effectué dans la chambre du patient, appliquer les mesures suivantes pour réduire le risque de transmission à d'autres patients, les travailleurs de la santé et de l'équipement:

- tous les patients EPC (entérobactéries productrices de carbapénèmases) positifs doivent passer en dernier pour leurs sessions de thérapie de la journée;

- le personnel de thérapie doit être avisé des patients avant le transport,

- Assurez-vous du confinement d'urine, d'excréments et du drainage des plaies;

- le patient doit se laver les mains avant de quitter la salle et doit avoir sa propre source.

- Les thérapeutes doivent se laver les mains avant et immédiatement après la prestation de soins ou de services.

1.10 Visiteurs du patient : ^[58] ^[61]

Les visiteurs du patient ayant EPC (entérobactéries productrices de carbapénèmases) positif devraient suivre la politique de l'établissement de soins pour les visiteurs pour prévenir la transmission des ERC, y compris:

- Porter des équipements de protection individuelle **EPI** (blouses, gants, masques) pour effectuer des soins directs aux patients ;
- Se laver les mains en entrant et en sortant de la chambre du patient;
- Évitez l'itinérance et l'entrée dans les chambres des autres patients;
- Évitez de visiter d'autres patients. Si toutefois un visiteur s'occupe de plus d'un patient, ils doivent se laver les mains avant chaque soin.

1.11 Interruption des précautions de contact/Durée des précautions supplémentaires : ^[58]

Pour ce qui est durée ;aucune donnée n'est disponible sur la durée de portage d'une entérobactérie productrice d'une carbapénèmase et la plupart des patients colonisés ne présentent pas de symptômes. Selon les recommandations actuelles des spécialistes, il est prudent de maintenir les précautions contre la transmission par contact pendant toute la durée de l'hospitalisation de même qu'ils devraient être considérés comme étant colonisés et faire de nouveau l'objet de précautions supplémentaires s'ils sont réhospitalisés au cours de l'année qui suit. Lors d'un séjour prolongé, l'équipe de prévention des infections pourrait envisager de mettre fin à l'isolement si plusieurs résultats de dépistages, réalisés une semaine ou plus suivant l'arrêt de tout antibiotique topique ou systémique, sont négatifs.

2. Rationalisation de la consommation des antibiotiques et de leur prescription :^{[58][60] [61] [63] [66]}

La rationalisation de la prescription des antibiotiques en ville comme à l'hôpital est le second enjeu de cette prévention. Celle-ci doit se faire à plusieurs niveaux, pour les infections à germes non-multirésistants et à germes multirésistants. Voici quelques pistes pour promouvoir l'utilisation judicieuse des antibiotiques :

- la mise en place d'un programme de surveillance de l'usage des antibiotiques accompagné de guides cliniques et d'activités de formation continue sont des éléments qu'il est souhaitable d'implanter dans les milieux de soins.

- L'usage optimal des antibiotiques : c'est un élément incontournable d'un programme de prévention de l'émergence de la résistance bactérienne. Selon Hawkey (2008), il s'agirait là de la première action à réaliser pour réduire la pression sélective générée par l'utilisation des antibiotiques. D'ailleurs, les plans d'action nationaux et internationaux visant à prévenir la résistance bactérienne aux antibiotiques en font une priorité.

- l'utilisation des C3G dans le traitement des infections par des β - lactamases à spectre étendu [BLSE] lorsqu'elles apparaissent sensibles sur l'antibiogramme pour diminuer la consommation d'imipénème ou carbapénèmes.

XII. Traitement des infections dues aux producteurs carbapénèmases : [8] [33] [72] [77] [78] [79] [80] [90]

La distinction entre patients colonisés (qui constituent actuellement la majorité des cas rapportés) et patients infectés est importante, car un traitement antibiotique ne devrait être instauré que chez les patients qui présentent une infection documentée. La Polymyxines, la tigécycline et la fosfomycine sont les agents les plus utilisés dans ce dernier cas, mais ils ont tous des limites. Le dosage varie avec le patient et le site de l'infection, mais devrait être mis sur le principe du «plus sûr» plutôt que de «minimum potentiellement efficace»; la durée devrait être en standard pour le type d'infection.

Les données actuellement disponibles dans la littérature concernant l'antibiothérapie des patients infectés par des bactéries productrices de carbapénèmases peuvent se résumer comme suit : Tableau 10

Tableau 10 : Antibiothérapie des patients infectés par des bactéries productrices de carbapénémases. ^[85]

Molécule	Potentiel	Limites
<p>Polymyxin B et E (colistin)</p> <p>. (i.v.)</p> <p>. Dose de charge initiale de 6 à 9 MiU</p> <p>. Posologie journalière doit être comprise entre 9 et 12 MiU administrées en 2, 3 ou même 4 doses (à fonction rénale normale)</p>	<p>Actives contre 90% des producteurs.</p> <p>Rapports de cas d'utilisation réussie dans une gamme d'infections dues aux producteurs carbapénémases.</p>	<p>Néphro et neurotoxicité significative</p> <p>Pauvre pénétration au poumon.</p>
<p>Tigecycline</p> <p>. (i.v.)</p> <p>. 100-150 mg 2 fois / jour</p>	<p>Actif in vitro contre la plupart des <i>E. coli</i> carbapénémases résistante.</p>	<p>Concentrations sanguines faibles; inappropriés dans les infections urinaires que seulement 22% excrété dans l'urine.</p> <p>Surmortalité dans certains essais, esp. pneumonies acquises sous ventilation (pas une indication autorisée).</p> <p>Beaucoup <i>Klebsiella</i> seulement modérément sensible (CMI, 2 mg / L), d'autres résistants.</p>
<p>Fosfomycin</p> <p>. (oral et i.v.)</p> <p>. 4-8 g 3 fois / jour</p>	<p>Actif contre la plupart des carbapénémases, y compris NDM-1.</p> <p>Efficace dans les infections urinaires</p>	<p>La sensibilité limite commune à <i>Klebsiella spp.</i></p> <p>Risque de résistance par mutation.</p>

Remarque : Les traitements associant deux antibiotiques ou plus sont plus efficaces qu'une monothérapie.

Conclusion

Conscience de leur entrée en milieu hospitalier, les producteurs carbapénèmases représentent une nouvelle menace majeure pour la santé publique. Ces souches nécessitent d'être rapidement et efficacement détectées afin de prendre au plus vite les mesures préventives et thérapeutiques appropriées vis-à-vis des patients qui les hébergent. Leur détection peut parfois se révéler difficile, mais les nouvelles techniques de biologie moléculaire sont des outils puissants et robustes permettant leur détection et leur identification.

La modulation des facteurs qui favorisent la propagation des producteurs carbapénèmases dans la communauté est difficile parce que ces facteurs sont multiples et sont associés à l'absence d'utilisation d'hygiène, la surutilisation de médicaments antibactériens, et l'augmentation des voyages à travers le monde. Nous ne pouvons pas prédire la vitesse de diffusion de ces producteurs carbapénèmases et leurs prévalences réelles sont encore inconnues, car de nombreux pays qui sont susceptibles d'être leurs principaux réservoirs n'ont pas établi de protocoles de recherche pour leur détection. Des études récentes préviennent que nous sommes maintenant au bord de deux épidémies concomitantes de producteurs carbapénèmases à travers le monde. La première épidémie sera causée principalement par les producteurs carbapénèmases dans *Escherichia coli* comme source d'infections communautaires. Ces carbapénèmases sont donc loin surtout de la New Delhi Metallo (NDM) et des types OXA-48. Quelques rapports publiés de la

communauté infections causée par les producteurs carbapénèmases sont disponibles, mais il est plus probable que le nombre de cas en zones d'endémie sont déjà élevés. L'exemple de la propagation des producteurs de BLSE dans la communauté au cours des dix dernières années nous montre que le taux élevé de producteurs carbapénèmases dans *E. coli* peut être atteint rapidement dans le monde. Par opposition à une épidémie virale, comme la grippe pandémique (H1N1) 2009, l'épidémie de producteurs carbapénèmases ne peut pas s'arrêter spontanément. Ces épidémies communautaires seront difficiles à contrôler. La deuxième épidémie sera probablement causée principalement par les producteurs carbapénèmases nosocomiaux dans *K. pneumoniae* de tous types (KPC, IMP, VIM, NDM, et OXA-48). Il est probable que dans certains pays les taux élevés de différents types de producteurs carbapénèmases peuvent déjà exister, par exemple, en Grèce (VIM et KPC) et dans le sous-continent indien (NDM, KPC, OXA-181). *K. pneumoniae* jouera un rôle majeur, car il a été identifié à plusieurs reprises comme, étant les espèces les plus communes pour les entérobactéries BLSE, propagation de gènes dans les établissements de soins de santé au cours des 30 dernières années.

Au Maroc, la prévalence de la résistance induite par les carbapénèmases reste encore mal connue, vu l'absence d'un système de surveillance sanitaire pour ces enzymes. Il convient évidemment de tout mettre en œuvre pour mettre fin à cette situation. Pour cela, la synthèse et l'application rigoureuse de stratégies de dépistage et protocoles de maîtrise de la diffusion doivent être

établies en urgence. Il convient également de limiter au maximum la pression de sélection et donc de maîtriser la prescription des carbapénèmes, grâce à la rédaction de recommandations d'une part, et à la présence de référents antibiotiques dans les hôpitaux, d'autre part. Ceux d'autant qu'il n'existe actuellement pas de perspective proche de mise sur le marché de nouveaux antibiotiques.

REFERENCES

BIBIOLOGRAPHIQUES

- [1] Institut de veille sanitaire InVS. Surveillance des infections associées aux soins (IAS) Publié le 18/10/2010 - Dernière mise à jour le 12/06/2012.
- [2] Institut national de santé publique du Québec. Prévention et contrôle de la transmission des entérobactéries productrices de carbapénémases dans les milieux de soins aigus du Québec. Octobre 2010.
- [3] Nordmann P, Carrer A. Les carbapénémases des entérobactéries. Archives de pédiatrie 2010; 17 Suppl 4: S154-S162.
- [4] Adeline BOUTET-DUBOIS, Alix PANTEL, Albert SOTTO, Jean-Philippe LAVIGNE. Alin&as. Les entérobactéries productrices de carbapénémases. avril 2012 n°2 Page 1 à 5.
- [5] Samy FIGUEIREDO, Acinetobacter spp Et réservoir de gènes de carbapénémases, thèse de doctorat université paris-sud 11 soutenue le 17/10/2011. 5-10
- [6] Rémy Gauzit, Yves Péan, Serge Alfandari, Jean Pierre Bru, Jean Pierre Bedos, Christian Rabaud, Jérôme Robert. Utilisation des carbapénèmes dans les établissements de santé en 2011. Journées Nationales d'Infectiologie, Tours, 14-15 juin 2012
- [7] Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(3):969-76.
- [8] Sridhar Rao P.N Assistant Professor Dept. of Microbiology JJMMC, Davangere. Carbapenemases (serine and metallo-beta-lactamases) (www.microrao.com) 27 May 2012
- [9] Queenan and Karen Bush Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development, L.L.C., Raritan, New Jersey 08869. Carbapenemases: the Versatile beta-Lactamases. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, July 2007, p. 440–458.
- [10] Grall N, Andremont A, Armand-Lefèvre L. Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse ? Journal des anti-infectieux 2011;13(2): 87-102.
- [11] Andres Opazo, Mariana Domínguez, Helia Bello, Sebastian G. B. Amyes, Gerardo González-Rocha. OXA-type carbapenemases in Acinetobacter baumannii in South America. J Infect Dev Ctries 2012; 6(4):311-316.

- [12]** P. Nordmann*, A. Carrer. Carbapenemases in enterobacteriaceae . 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. Archives de Pédiatrie 2010;17: 154-162
- [13]** Grall N, et al. Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse?. Journal des Antinfectieux (2011), doi: 10.1016 /j.antinf . 2011 .03.005 ;3-6
- [14]** ANNEXE 1. Lettre d'information du CA-SFM concernant la detection de la production de carbapenemases chez les entérobactéries . Janvier 2012 .
- [15]** Krisztina M. Papp-Wallace, Andrea Endimiani, Magdalena A. Taracila, and Robert A. Bonomo. Carbapenems: Past, Present, and Future. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Nov. 2011, p. 4943–4960
- [16]** Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. International journal antimicrobial agents 2010; 36 Suppl 3: S8-14.
- [17]** Cornaglia G, Rossolini GM. The emerging threat of acquired carbapénèmes in gram-negative bacteria. Clinical microbiology and infection 2010; 16(2): 99-101. (Réf 26387)
- [18]** Thierry NAAS. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les bacilles Gram-négatifs et diffusion dans le monde .13ème journée Maurice Rapin 9 novembre 2012
- [19]** Grall N, et al. Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse?. Journal des Antinfectieux (2011), doi: 10.1016 /j.antinf . 2011 .03.005 ;6-11.
- [20]** Kontopoulou K, Protonotariou E, Vasilakos K, Kriti M, Koteli A, Antoniadou E, et al. Hospital outbreak caused by Klebsiella pneumoniae producing KPC-2 β -lactamase resistant to colistin. J Hosp Infect 2010;76(1):70-3.
- [21]** Zarkotou O, Pournaras S, Voulgari E, Chrysos G, Prekates A, Voutsinas D, et al. Risk factors and outcomes associated with acquisition of colistin-resistant KPC-producing Klebsiella pneumoniae: a matched case-control study. J Clin Microbiol 2010 Jun;48(6):2271-4.
- [22]** Grall N, et al. Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ?. Journal des Antinfectieux (2011), doi:10.1016/j.antinf.2011.03.005
- [23]** Health Protection Agency. Carbapenemase de production entérobactéries au Royaume-Uni, 2003-2011. Volume 5 No 24 , 1 Juin 2011

- [24] Struelens MJ, Monnet DL, Magiorakos AP et al. New Delhi métallo-bêta-lactamase 1-production Enterobacteriaceae : émergence et la réponse. d'Europe Euro. Surveill 2010; 15.
- [25] Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, et al. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *The Lancet infectious diseases* 2011; 11(5): 355-362.
- [26] Livermore DM, TR Walsh, Toleman M *et al*. Balkans NDM-1: évasion ou la transplantation *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11 : 164.
- [27] JM Andrews, Parti BSAC de travail sur les tests de sensibilité. BSAC méthodes pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens: version 10.1, avril 2011. BSAC
- [28] Patrice Nordmann , Thierry Naas , et Laurent Poirel. Propagation mondiale de carbapénemase de production Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* >v.17 (10); octobre 2011 PMC3310682
- [29] Maitrise de la diffusion des bacteries multiresistantes aux antibiotiques importees en FRANCE par des patients rapatriés ou ayant des antécédents d'hospitalisation a l'étranger. Haut Conseil de la Sante Publique. Commission specialisee securite des patients : infections nosocomiales et autres evenements indesirables lies aux soins et aux pratiques. 2eme version. Novembre 2010. http://www.hcsp.fr/docspdf/avisrapports/hcspr20101116_bmrimport.pdf
- [30] T. NAAS . Labex LERMIT, PL01 - EPIDÉMIOLOGIE MONDIALE ET FRANÇAISE ; XXIIIe Congrès national de la SF2H - LILLE 6, 7 et 8 juin 2012 ; 1-2.
- [31] Institut de veille sanitaire InVS. ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE CARBAPÉNÈMASES (EPC). Episodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmases en France. Situation épidémiologique du 18 mai 2012. Publié le 12/06/2012 - Dernière mise à jour le 18/10/2012
- [32] Risk assessment on the spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) .through patient transfer between healthcare facilities, with special emphasis on cross-border transfer. European Centre for Disease Prevention and Control, 2011. Stockholm, September 2011
- [33] Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, *et al*. What remains against carbapenem-resistant enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol,

ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. International journal of antimicrobial agents 2011; 37(5): 415-419.

[34] F. Pasteran et al. Sensitive Screening Tests for Suspected Class A Carbapenemase Production in species of *Enterobacteriaceae*. 2009 J. Clin. Microbiol. Vol. 47 N°6

[35] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3, 5 January 2011. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v1.3_pdf.pdf.

[36] Pasteran F, Mendez T, Rapoport M, Guerriero L, Corso A. Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class A carbapenemase in species of *Enterobacteriaceae* by incorporating boronic acid. J Clin Microbiol 2010;48(4):1323-32.

[37] Carrer A, Fortineau N, Nordmann P. Use of the ChromID extended-spectrum beta-lactamase medium for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol 2010;48:1913-4.

[38] Nordmann P, Poirel L, Carrer A, Toleman MA, et al. How to detect NDM-1 producers? Journal of clinical microbiology 2011; 49(2): 718- 721.

[39] Struelens MJ, Monnet DL, Magiorakos AP, et al. Entérobactéries productrices de New Delhi métallobêta-lactamase NDM-1 : émergence et réponse en Europe. Eurosurveillance 2010; 15(46): 1-8.

[40] Richter SN, Frasson I, Bergo C, et al. Transfer of KPC-2 Carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* to *Escherichia coli* in a patient: first case in Europe. Journal of Clinical Microbiology 2011; 49(5): 2040- 2042.

[41] Doern CD, Dunne WM, Burnham CA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) production in non-*Klebsiella pneumoniae* *enterobacteriaceae* isolates by use of the Phoenix, Vitek 2, and disk diffusion methods. Journal of clinical microbiology 2011; 49(3):1143-1147.

[42] Infectieuses Société américaine des maladies .; Spellberg B, M Blaser, Guidos RJ, Boucher HW, Bradley JS, et al lutte contre la résistance aux antimicrobiens:

recommandations politiques pour sauver des vies. Clin Infect Dis . 2011 ; 52 (Suppl 5): S397 - 428 .

[43] Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerg Infect Dis [serial on the Internet]. 2012 Sep [date cited]. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1809.120355>

[44] Delphine Girlich, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann. Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae 23 November 2011 Journal of Clinical Microbiology p. 477–479

[45] Patrice Nordmann et Laurent Poirel. Stratégies pour l'identification des entérobactéries productrices de carbapenemase. Octobre 26, 2012

[46] Anne Marie Queenan* and Karen Bush. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases *Clin. Microbiol. Rev.* 2007, 20(3):440. DOI: 10.1128/CMR.00001-07.

[47] G. Cuzon *, T. Naas, P. Nordmann. Carbapénémases de type KPC : quel enjeu en microbiologie clinique ? KPC carbapenemases: What issue in clinical microbiology? 24 octobre 2009

[48] Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 432–8.

[49] Patrice Nordmann* and Laurent Poirel. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae November 24, 2012

[50] Girlich D, et al, Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of Enterobacteriaceae with reduced su..., Diagn Microbiol Infect Dis (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.006>

[51] G. Arlet. Quel avenir pour les carbapénémases ? *Le point sur les méthodes de détection*. 3ème journée Maurice Rapin Infections à l'Hôpital 9 novembre 2012

[52] RHC .Recommandations pour le laboratoire Stratégie de détection des Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) Version 3 RHC-arlin – 30 Mars 2011.

[53] Guillaume Arlet. Quel avenir pour les carbapénémases ? Le point sur les méthodes de détection ; 13ème journée Maurice Rapin 9 novembre 2012

- [54]** Guidance for Control of Infections with Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Acute Care Facilities. 2009 MMWR Vol. 58 N°10
- [55]** Entérobactérie productrice de carbapénémase (EPC) Journées des correspondants en hygiène d'Aquitaine 24 mai 2012
- [56]** Patrice Nordmann, Thierry Naas, and Laurent Poirel. Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 17, No. 10, October 2011
- [57]** Kalpoe JS, Al Naiemi N, Poirel L, Nordmann P. Detection of an Ambler class D OXA-48-type β -lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* strain in The Netherlands. *J Med Microbiol.* 2011;60:677–8. doi:10.1099/jmm.0.028308-0
- [58]** ANNE BERGER-CARBONNE, *Paris*. PLO2 - BACTERIES HAUTEMENT RESISTANTES (BHR) MISE EN OEUVRE, APPLICATION DES RECOMMANDATIONS. XXIIIe Congrès national de la SF2H - LILLE 6, 7 et 8 juin 2012 ; 3-4
- [59]** Comité consultatif provincial des maladies infectieuses (CCPMI). Annexe A : Dépistage, analyse et surveillance des organismes antibiorésistants (OA) | février 2012 ; p : 4-7 ; 20-36 .
- [60]** National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. Division of Healthcare Quality Promotion. Guidance for Control of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) .2012 CRE Toolkit p 4-11.
- [61]** Centers for Disease Control and Prevention (2009, Mars 20). Guidance for Control of Infections with Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Acute Care Facilities. *MMWR*, 58(10):256-260. Document consulté le 17 août 2010. Ce document provient de : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5810a4.htm>.
- [62]** Lucie Beaudreau, Lise-Andrée Galarneau, Marie Gourdeau , Institut national de santé publique du Québec. Prévention et contrôle de la transmission des entérobactéries productrices de carbapénémases dans les milieux de soins aigus du Québec. 2010, 37 pages (Réf 29031)
- [63]** Public Health England. Interim Guidance for the Control of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in England. February 2013.

- [64] Vodovar D, et al. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. Rev Med Interne (2012) : 1-6.
- [65] Minnesota Department of Health , Infectious Disease Epidemiology, Prevention and Control Division . Recommendations for the Management of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Long-term Care Facilities .May, 2012.
- [66] Gauzit R, Gutmann L, Brun-Buisson C, *et al.* Recommandations de bon usage des carbapénèmes. Antibiotiques 2010; 12(4): 183-189.
- [67] CCLIN Ouest. Précautions complémentaires en cas de Bactéries hautement résistantes à portage digestif. 2011, 2 pages.
- [68] Advisory committee on antimicrobial resistance and healthcare associated infection (ARHAI), Health protection agency. Advice on carbapenemase producers: recognition, infection control and management. 2011, 7 pages.
- [69] Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA, Dutch working party on the detection of highly resistant microorganisms. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in enterobacteriaceae. International journal of antimicrobial agents 2010; 36(3): 205-210.
- [70] Centers for disease control and prevention (CDC). Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities. MMWR Morbidity and mortality weekly report 2009; 58(10): 256-260.
- [71] Bilavsky E, Schwaber MJ, Carmeli Y. How to stem the tide of carbapénèmase producing enterobacteriaceae? Proactive *versus* reactive strategies. Current opinion in infectious diseases 2010; 23(4): 327-331.
- [72] Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, *et al.* Controlling the spread of carbapenemase-producing gram-negatives: therapeutic approach and infection control. Clinical microbiology and infection 2010; 16(2):102-111.
- [73] Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, *et al.* Acquired carbapénèmases in gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. Clinical microbiology and infection 2010; 16(2): 112-122.
- [74] Institut Scientifique de Santé Publique - Santé publique et surveillance Infections liées aux soins (NSIH). 2012.

- [75]** Akova M et al. Interventional strategies and current clinical experiences with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:439-48.
- [76]** Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:102-11.
- [77]** Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2010; 65(6): 1119-1125.
- [78]** Giamarellou H. Multidrug-resistant gram-negative bacteria: how to treat and for how long. *International journal of antimicrobial agents* 2010; 36 suppl 2: S50-S54.
- [79]** Qureshi ZA et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2108-13.
- [80]** Belgium antibiotic policy coordination committee BPCOC Prise en charge thérapeutique des patients présentant une infection à entérobactéries productrices de carbapénémases (CPE)
- [81]** Institut de veille sanitaire (InVS) : <http://www.invs.sante.fr/surveillance/enterobacteries>
- [82]** European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARSNet): <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Pages/index.aspx>
- [83]** Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) : <http://www.onerba.org>
- [84]** Centers for Disease Control and prevention (CDC) : <http://www.cdc.gov>
- [85]** Health Protection Agency. Advice on Carbapenemase Producers: Recognition, infection control and treatment. 2011.
- [86]** André Birgy, Philippe Bidet, Nathalie Genel, Catherine Doit, Dominique Decré, Guillaume Arlet et Edouard Bingen Le dépistage phénotypique de carbapénémases et associés β -lactamases à carbapénèmes résistant *Enterobacteriaceae* 18 Janvier 2012, doi: 10.1128 / JCM.06131-11 *J. Clin. Microbiol.* Avril 2012 vol. 50 no. 4 1295-1.302

- [87]** Debby BD, Ganor O, Yasmin M, David L, Nathan K, Ilana T, Dalit S, Smollan G, Galia R. Epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in an intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Aug;31(8):1811-7. Epub 2012 Jan 14.
- [88]** Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Fligou F, Christofidou M, Bartzavali C, Anastassiou ED, Filos KS. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization upon ICU admission. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Aug 26.
- [89]** Schechner V, Kotlovsky T, Kazma M, Mishali H, Schwartz D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Asymptomatic rectal carriage of bla(KPC) producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: who is prone to become clinically infected? *Clin Microbiol Infect*. 2012 Apr 6.
- [90]** Perez F, Pultz MJ, Endimiani A, Bonomo RA, Donskey CJ. Effect of antibiotic treatment on establishment and elimination of intestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Jun;55(6):2585-9. Epub 2011 Mar 21.
- [91]** Thierry NAAS. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les bacilles Gram-négatifs et diffusion dans le monde 13ème journée Maurice Rapin 9 novembre 2012
- [92]** Représentation schématique de l'environnement génétique du *bla*_{OXA-48} gène. Transposon Tn 1999.2
<http://aac.asm.org/content/55/5/2420/F1.expansion.html>
- [93]** Carte circulaire du plasmide PNDM-BJ01 chez *Acinetobacter*. Le *bla* NDM-1 gène et l'élément d'insertion IS*Aba125* sont colorés de rouge et de pourpre, respectivement. <http://aac.asm.org/content/56/4/1698/F1.expansion.html>
- [94]** Annotation partielle de la pleine longueur de 24,3 kb du plasmide portant *bla* KPC-2 associé à Tn 4401 de *K. pneumoniae*.
<http://aac.asm.org/content/53/5/1998.full>
- [95]** Y. Glupczynski, O. Denis, M. Gerard, B. Gordts, H. Jansens, D. Pierard, A. Simon, B. Catry, M. Costers, B. Jans. Emergence rapide d'entérobactéries multi-résistantes, productrices de carbapénémases (CPE) en Belgique. 2011

- [96]** Audrey Mérens^a, Frédéric Janvier^{a, d}, Hoan Vu-Thien^b, Jean-Didier Cavallod, Katy Jeannot^c; Phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*. Revue Francophone des Laboratoires. September–October 2012, Pages 59–74
- [97]** [m/wp-content/uploads/2011/06/21-Jun-11-28178-Brilliance-CRE-datasheet-WEB.pdf](#)
- [98]** http://www.biomerieuxdiagnostics.com/servlet/srt/bio/clinicaldiagnostics/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_PRD_CPL_G_PRD_CLN_21&pubparams.sform=15&lang=en
- [99]** <http://pages.usherbrooke.ca/bcm-514-bl/5b1.html>
- [100]** <http://www.jle.com/edocs/00/04/13/1E/article.phtml?fichier=images.htm>
- [101]** INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC. Rapport sur la surveillance de laboratoire des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes isolées au Québec entre août 2010 et octobre 2011. Mars 2012

RESUME

Résumé

Titre : Carbapénèmases : nouvelles techniques de dépistage et recommandations.

Auteurs : Rachidi Zakaria

Mots clés : Carbapénèmases, Carbapénème, Classification, Epidémiologie, Recommandations, Entérobactérie, Résistance, Dépistage .

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes constitue un véritable défi en cela qu'elle conduit à des impasses thérapeutiques. Cette résistance peut être due à des mécanismes chromosomiques (altération de la porine OprD chez *Pseudomonas aeruginosa*), à l'association de mécanismes de résistances (b-lactamase à spectre étendu [BLSE] et/ou céphalosporinase associée à une perte de la perméabilité membranaire chez les entérobactéries) ou à la production d'enzymes hydrolysant les carbapénèmes. Ce dernier mécanisme est le plus inquiétant par le fait que les gènes codant pour ces enzymes sont habituellement situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, intégrons) permettant une dissémination rapide. Les carbapénèmases constituent un groupe hétérogène d'enzymes dont le point commun est d'hydrolyser au moins un des carbapénèmes. Les plus fréquentes sont KPC (classe A d'Ambler), VIM, IMP, NDM (classe B), OXA-48 et OXA-23 (classe D). Ces enzymes sont retrouvées dans une grande variété d'espèces bactériennes (entérobactéries, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*). Les carbapénèmases ont une distribution géographique mondiale, mais certains pays semblent plus spécifiquement touchés. Il est ainsi nécessaire d'appliquer les recommandations récentes et de dépister activement les patients à risques ou ceux en provenance de zones endémiques afin de prévenir la dissémination de cette résistance dans nos hôpitaux.

Summary

Title : Carbapenemases: new screening techniques and recommendations

Author: Rachidi Zakaria

Keywords : Carbapenemase, carbapenem, Classification, Epidemiology, Recommendations, Enterobacteriaceae, Resistance, Screening.

Carbapenem resistance poses a serious threat as it leads to therapeutic dead-end. It might be achieved through selective loss of external membrane permeability (such as OprD porin loss in *Pseudomonas aeruginosa*), combination of impermeability with various wide-spectrum β -lactamases (extended-spectrum β -lactamase [ESBL] and/ or cephalosporinase) or carbapenem-hydrolyzing enzymes i.e., carbapenemases. The latter are of concern as their respective encoding genes are carried by transmissible genetic elements that leads to a wide and rapid dissemination. Carbapenemases encompass heterogeneous enzymes of which denominator is to hydrolyze at least one carbapenem. The most prevalent are KPC (Ambler class A), VIM, IMP, NDM (class B), OXA-48 and OXA-23 (class D). They have been described in a large subset of bacterial species (Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*). Carbapenemases have been isolated worldwide, yet some countries appear to be specifically stricken. It is therefore necessary to implement the recent recommendations and actively detect risk patients or those from endemic areas to prevent the spread of this resistance in our hospitals.

ملخص

العنوان : الكربينيماز: التوصيات الجديدة و تقنيات التشخيص

الكاتب : رشدي زكرياء

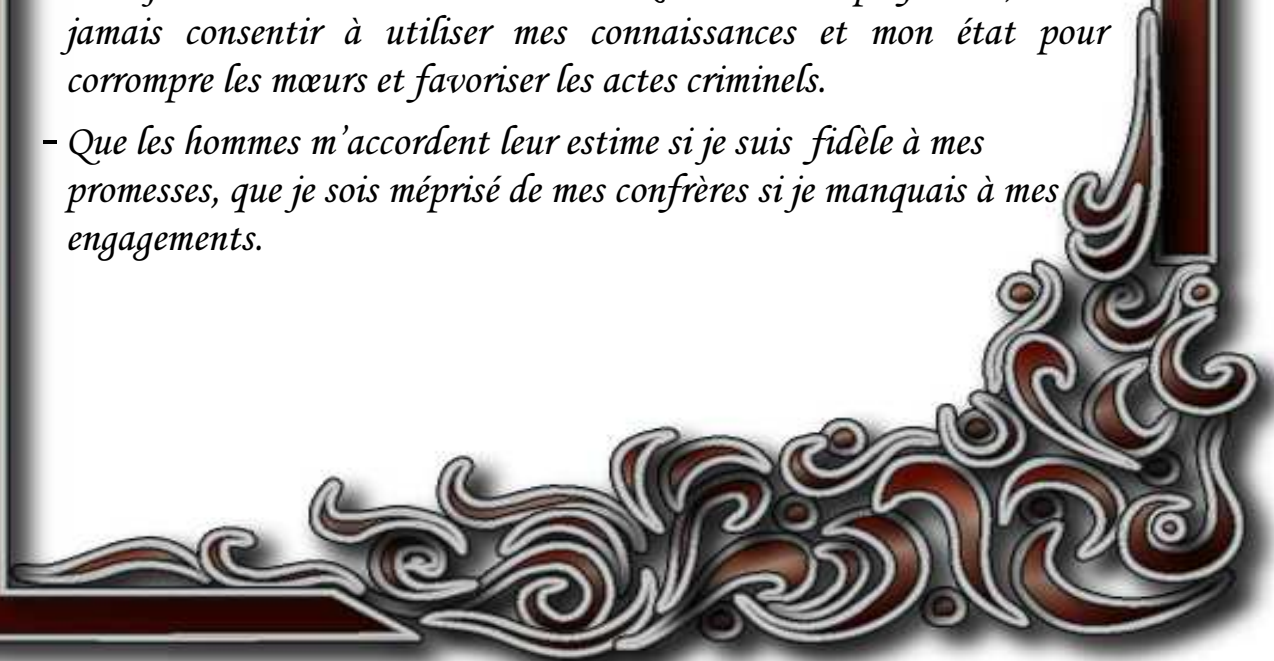
الكلمات الأساسية: الكربينيماز،الكربينيم،تصنيف، علم الأوبئة، توصيات، البكتيريا المعوية، مقاومة، تشخيص، المقاومة.

يشكل ظهور مقاومة ضد الكربينيم تحديا من حيث أنه يؤدي إلى طرق علاجية مسدودة . وهذا قد يكون راجعا إلى آليات المقاومة الكروموسومية ،أو إلى إنتاج إنزيمات تسمى الكربينماز. هذه الآلية هي الأكثر إثارة للقلق لأن هذه الأنزيمات تتواجد على مستوى عناصر كرموزومية متنقلة تمكنها من الانتشار السريع . الكربينماز إذن هي مجموعة هجينة من الأنزيمات رابطها المشترك هو تدمير الكربينيم أهمها ال KPC من المجموعة أ لأمبيلر، ال VIM,IMP,NDM من المجموعة ب لأمبيلر و OXA48 من المجموعة د لأمبيلر. هذه الكربينماز تتواجد ضمن مجموعة كبيرة من البكتيريا ذات إنتشار واسع في العالم لكن يبدو أن بعض البلدان هي الأكثر احتضانا لها، لذلك من المهم تطبيق التوصيات الجديدة و التشخيص الفعال للمرضى الأكثر عرضة و القادمين من المناطق المعروفة بكترة الكربينماز و ذلك للحد من انتشارها في مستشفياتنا .

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

وأحضر بالعلم والعظمة

- أن أراقب الله في مهنتي،
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم،
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية،
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع،
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية،
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول

بشهادتي

" الكربنيماز : التوصيات الجديدة

و تقنيات التشخيص "

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:.....

من طرف

السيد : زكرياء رشيدوي

المزاداد في 08 يوليوز 1988 بوجدة

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الكربنيماز ،الكربنيم ،تصنيف، علم الأوبئة، توصيات، البكتيريا المعوية، مقاومة، تشخيص، المقاومة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : ميمون الزهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرفة

السيدة : سكيبة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيدة : سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الإحيائية

أعضاء

السيدة : نوال الشرقاوي

أستاذة مبرزة في علم الصيدلة