

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

**ANNÉE : 2013**

**THESE N°: 04**

**PROFIL ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES ENTÉROBACTÉRIES  
SÉCRÉTRICES DE BÊTA-LACTAMASES À SPECTRE ÉLARGI  
DIAGNOSTIQUÉES AU SEIN DU LABORATOIRE DE  
MICROBIOLOGIE DU CHU DE RABAT**

**THESE**

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*  
**PAR**

**Mlle Laila FOULAL**  
*Née le 28 Janvier 1986 à Casablanca*

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**MOTS CLÉS : Entérobactéries- Antibiotiques- Résistance- BLSE**  
**Épidémiologie**

**MEMBRES DE JURY**

**Mr O.CHOKAIRI**  
Professeur d'Histologie Embryologie

**PRESIDENT**

**Mr M. ZOUHDI**  
Professeur de Microbiologie

**RAPPORTEUR**

**Mme S.ELHAMZAOUI**  
Professeur de Microbiologie

**JUGES**

**Mme S.TELLAL**  
Professeur de Biochimie



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا  
إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 32

صِدْقَةَ اللَّهِ الْعَظِيمَةَ



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

**DOYENS HONORAIRES :**

**1962 – 1969 : Professeur 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 AbdelmajidBELMAHI

**ADMINISTRATION :**

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI  
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

***PROFESSEURS :***

**Mars, Avril et Septembre 1980**

1. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie

**Mai et Octobre 1981**

2. Pr. HAMANI Ahmed\* Cardiologie  
3. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire  
4. Pr. TAOBANE Hamid\* Chirurgie Thoracique

**Mai et Novembre 1982**

5. Pr. ABROUQ Ali\* Oto-Rhino-Laryngologie  
6. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire  
7. Pr. BENSOUA Mohamed Anatomie  
8. Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique  
9. Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI Physiologie

**Novembre 1983**

10. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir\* Pneumo-ptisiologie  
11. Pr. BELLAKHDAR Fouad Neurochirurgie  
12. Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI Rhumatologie

#### Décembre 1984

- |                                      |                         |
|--------------------------------------|-------------------------|
| 13. Pr. BOUCETTA Mohamed*            | Neurochirurgie          |
| 14. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie           |
| 15. Pr. MAAOUNI Abdelaziz            | Médecine Interne        |
| 16. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi         | Anesthésie -Réanimation |
| 17. Pr. NAJI M' Barek*               | Immuno-Hématologie      |
| 18. Pr. SETTAF Abdellatif            | Chirurgie               |

#### Novembre et Décembre 1985

- |   |   |
|---|---|
| 19. Pr. BENJELLOUN Halima                 | Cardiologie                               |
| 20. Pr. BENSALD Younes                    | Pathologie Chirurgicale                   |
| 21. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa | Neurologie                                |
| 22. Pr. IHRAI Hssain*                     | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 23. Pr. IRAQI Ghali                       | Pneumo-ptisiologie                        |

#### Janvier, Février et Décembre 1987

- |   |                              |
|---|------------------------------|
| 24. Pr. AJANA Ali                       | Radiologie                   |
| 25. Pr. AMMAR Fanid                     | Pathologie Chirurgicale      |
| 26. Pr. CHAHED OUZZANI Houriaép.TAOBANE | Gastro-Entérologie           |
| 27. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq  | Pneumo-ptisiologie           |
| 28. Pr. EL HAITEM Naïma                 | Cardiologie                  |
| 29. Pr. EL MANSOURI Abdellah*           | Chimie-Toxicologie Expertise |
| 30. Pr. EL YAACOUBI Moradh              | Traumatologie Orthopédie     |
| 31. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah        | Gastro-Entérologie           |
| 32. Pr. LACHKAR Hassan                  | Médecine Interne             |
| 33. Pr. YAHYAOUI Mohamed                | Neurologie                   |

#### Décembre 1988

- |                                     |                          |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 34. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique    |
| 35. Pr. DAFIRI Rachida              | Radiologie               |
| 36. Pr. FAIK Mohamed                | Urologie                 |
| 37. Pr. HERMAS Mohamed              | Traumatologie Orthopédie |
| 38. Pr. TOLOUNE Farida*             | Médecine Interne         |

#### Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- |                                    |                          |
|------------------------------------|--------------------------|
| 39. Pr. ADNAOUI Mohamed            | Médecine Interne         |
| 40. Pr. AOUNI Mohamed              | Médecine Interne         |
| 41. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie              |
| 42. Pr. CHAD Bouziane              | Pathologie Chirurgicale  |
| 43. Pr. CHKOFF Rachid              | Pathologie Chirurgicale  |
| 44. Pr. HACHIM Mohammed*           | Médecine-Interne         |
| 45. Pr. KHARBACH Aïcha             | Gynécologie -Obstétrique |
| 46. Pr. MANSOURI Fatima            | Anatomie-Pathologique    |

- |     |                                 |                        |
|-----|---------------------------------|------------------------|
| 47. | Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie             |
| 48. | Pr. SEDRATI Omar*               | Dermatologie           |
| 49. | Pr. TAZI Saoud Anas             | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

- |     |                                      |  |
|-----|--------------------------------------|--|
| 50. | Pr. AL HAMANY Zaïtounia              | Anatomie-Pathologique                          |
| 51. | Pr. AZZOUZI Abderrahim               | Anesthésie Réanimation                         |
| 52. | Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM         | Néphrologie                                    |
| 53. | Pr. BELKOUCHI Abdelkader             | Chirurgie Générale                             |
| 54. | Pr. BENABDELLAH Chahrazad            | Hématologie                                    |
| 55. | Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif  | Chirurgie Générale                             |
| 56. | Pr. BENSOU DA Yahia                  | Pharmacie galénique                            |
| 57. | Pr. BERRAHO Amina                    | Ophtalmologie                                  |
| 58. | Pr. BEZZAD Rachid                    | Gynécologie Obstétrique                        |
| 59. | Pr. CHABRAOUI Layachi                | Biochimie et Chimie                            |
| 60. | Pr. CHANA El Houssaine*              | Ophtalmologie                                  |
| 61. | Pr. CHERRAH Yahia                    | Pharmacologie                                  |
| 62. | Pr. CHOKAIRI Omar                    | Histologie Embryologie                         |
| 63. | Pr. JANATI Idrissi Mohamed*          | Chirurgie Générale                             |
| 64. | Pr. KHATTAB Mohamed                  | Pédiatrie                                      |
| 65. | Pr. OUAALINE Mohammed*               | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 66. | Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH | Pharmacologie                                  |
| 67. | Pr. TAOUFIK Jamal                    | Chimie thérapeutique                           |

Décembre 1992

- |     |                                      |                         |
|-----|--------------------------------------|-------------------------|
| 68. | Pr. AHALLAT Mohamed                  | Chirurgie Générale      |
| 69. | Pr. BENOUDA Amina                    | Microbiologie           |
| 70. | Pr. BENSOU DA Adil                   | Anesthésie Réanimation  |
| 71. | Pr. BOUJIDA Mohamed Najib            | Radiologie              |
| 72. | Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza          | Gastro-Entérologie      |
| 73. | Pr. CHRAIBI Chafiq                   | Gynécologie Obstétrique |
| 74. | Pr. DAOUDI Rajae                     | Ophtalmologie           |
| 75. | Pr. DEHAYNI Mohamed*                 | Gynécologie Obstétrique |
| 76. | Pr. EL HADDOURY Mohamed              | Anesthésie Réanimation  |
| 77. | Pr. EL OUAHABI Abdessamad            | Neurochirurgie          |
| 78. | Pr. FELLAT Rokaya                    | Cardiologie             |
| 79. | Pr. GHAFIR Driss*                    | Médecine Interne        |
| 80. | Pr. JIDDANE Mohamed                  | Anatomie                |
| 81. | Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine | Gynécologie Obstétrique |
| 82. | Pr. TAGHY Ahmed                      | Chirurgie Générale      |
| 83. | Pr. ZOUHDI Mimoun                    | Microbiologie           |

Mars 1994

- |     |                   |               |
|-----|-------------------|---------------|
| 84. | Pr. AGNAOU Lahcen | Ophtalmologie |
|-----|-------------------|---------------|

85. Pr. AL BAROUDI Saad	Chirurgie Générale
86. Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
87. Pr. BENJAAFAR Noureddine	Radiothérapie
88. Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
89. Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
90. Pr. CAOUI Malika	Biophysique
91. Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
92. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique
93. Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
94. Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumato-Orthopédie
95. Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
96. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
97. Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
98. Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
99. Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
100. Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
101. Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
102. Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
103. Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique
104. Pr. MAHFOUD Mustapha	Traumatologie – Orthopédie
105. Pr. MOUDENE Ahmed*	Traumatologie- Orthopédie
106. Pr. OULBACHA Said	Chirurgie Générale
107. Pr. RHRAB Brahim	Gynécologie –Obstétrique
108. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR	Dermatologie
109. Pr. SLAOUI Anas	Chirurgie Cardio-Vasculaire

#### Mars 1994

110. Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
111. Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
112. Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
113. Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
114. Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie
115. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
116. Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
117. Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
118. Pr. CHERKAOUI LallaOuafae	Ophtalmologie
119. Pr. EL ABBADI Najja	Neurochirurgie
120. Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
121. Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
122. Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
123. Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

#### Mars 1995

124. Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
----------------------------	----------------------

125. Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
126. Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
127. Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
128. Pr. BEDDOUCHE Amokrane*	Urologie
129. Pr. BENZAZZOUZ Mustapha	Gastro-Entérologie
130. Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
131. Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
132. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*	Anesthésie Réanimation
133. Pr. EL MESNAOUI Abbas	Chirurgie Générale
134. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
135. Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
136. Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
137. Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
138. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
139. Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
140. Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
141. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
142. Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
143. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

#### Décembre 1996

144. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
145. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
146. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
147. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
148. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
149. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
150. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
151. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
152. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
153. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
154. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
155. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
156. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

#### Novembre 1997

157. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
158. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
159. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
160. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
161. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
162. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
163. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
164. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie

165. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
166. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
167. Pr. KADDOURI Noureddine	Chirurgie Pédiatrique
168. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
169. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
170. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
171. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
172. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
173. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
174. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
175. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

#### Novembre 1998

176. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
177. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
178. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
179. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
180. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
181. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
182. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
183. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
184. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

#### Novembre 1998

185. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
186. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
187. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

#### Janvier 2000

188. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
189. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
190. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
191. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
192. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
193. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
194. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
195. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
196. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
197. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
198. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
199. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
200. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
201. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
202. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie

203. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss  
 204. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
 205. Pr. TACHINANTE Rajae  
 206. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Gastro-Entérologie  
 Anesthésie-Réanimation  
 Anesthésie-Réanimation  
 Médecine Interne

Novembre 2000

207. Pr. AIDI Saadia  
 208. Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
 209. Pr. AJANA Fatima Zohra  
 210. Pr. BENAMR Said  
 211. Pr. BENCHEKROUN Nabiha  
 212. Pr. CHERTI Mohammed  
 213. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
 214. Pr. EL HASSANI Amine  
 215. Pr. EL IDGHIRI Hassan  
 216. Pr. EL KHADER Khalid  
 217. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
 218. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
 219. Pr. HSSAIDA Rachid\*  
 220. Pr. LACHKAR Azzouz  
 221. Pr. LAHLOU Abdou  
 222. Pr. MAFTAH Mohamed\*  
 223. Pr. MAHASSINI Najat  
 224. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
 225. Pr. NASSIH Mohamed\*  
 226. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie  
 Dermatologie  
 Gastro-Entérologie  
 Chirurgie Générale  
 Ophtalmologie  
 Cardiologie  
 Anesthésie-Réanimation  
 Pédiatrie  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Urologie  
 Rhumatologie  
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
 Anesthésie-Réanimation  
 Urologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Neurochirurgie  
 Anatomie Pathologique  
 Pédiatrie  
 Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
 Neurologie

Décembre 2001

227. Pr. ABABOU Adil  
 228. Pr. BALKHI Hicham\*  
 229. Pr. BELMEKKI Mohammed  
 230. Pr. BENABDELJLIL Maria  
 231. Pr. BENAMAR Loubna  
 232. Pr. BENAMOR Jouda  
 233. Pr. BENELBARHDADI Imane  
 234. Pr. BENNANI Rajae  
 235. Pr. BENOUACHANE Thami  
 236. Pr. BENYOUSSEF Khalil  
 237. Pr. BERRADA Rachid  
 238. Pr. BEZZA Ahmed\*  
 239. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
 240. Pr. BOUHOUCHE Rachida  
 241. Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
 242. Pr. CHAT Latifa

Anesthésie-Réanimation  
 Anesthésie-Réanimation  
 Ophtalmologie  
 Neurologie  
 Néphrologie  
 Pneumo-phtisiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Dermatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Rhumatologie  
 Anatomie  
 Cardiologie  
 Radiologie  
 Radiologie

243. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
244. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
245. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
246. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
247. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
248. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
249. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
250. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
251. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
252. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
253. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
254. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
255. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
256. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
257. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
258. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
259. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
260. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
261. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
262. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
263. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
264. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
265. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
266. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
267. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie

#### Décembre 2002

268. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
269. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
270. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
271. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
272. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
273. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
274. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
275. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
276. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
277. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
278. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
279. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
280. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
281. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
282. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
283. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
284. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale

285. Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
 286. Pr. HADDOUR Leila  
 287. Pr. HAJJI Zakia  
 288. Pr. IKEN Ali  
 289. Pr. ISMAEL Farid  
 290. Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
 291. Pr. KRIOUILE Yamina  
 292. Pr. LAGHMARI Mina  
 293. Pr. MABROUK Hfid\*  
 294. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
 295. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*  
 296. Pr. NAITLHO Abdelhamid\*  
 297. Pr. OUJILAL Abdelilah  
 298. Pr. RACHID Khalid \*  
 299. Pr. RAISS Mohamed  
 300. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
 301. Pr. RHOU Hakima  
 302. Pr. SIAH Samir \*  
 303. Pr. THIMOU Amal  
 304. Pr. ZENTAR Aziz\*

Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Ophtalmologie  
 Urologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Pédiatrie  
 Ophtalmologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Médecine Interne  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Pneumophtisiologie  
 Néphrologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Générale

### **PROFESSEURS AGREGES :**

Janvier 2004

305. Pr. ABDELLAH El Hassan  
 306. Pr. AMRANI Mariam  
 307. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
 308. Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
 309. Pr. BENRAMDANE Larbi\*  
 310. Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
 311. Pr. BOULAADAS Malik  
 312. Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
 313. Pr. CHAGAR Belkacem\*  
 314. Pr. CHERRADI Nadia  
 315. Pr. EL FENNI Jamal\*  
 316. Pr. EL HANCHI ZAKI  
 317. Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
 318. Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
 319. Pr. HACHI Hafid  
 320. Pr. JABOUIRIK Fatima  
 321. Pr. KARMANE Abdelouahed  
 322. Pr. KHABOUZE Samira  
 323. Pr. KHARMAZ Mohamed  
 324. Pr. LEZREK Mohammed\*

Ophtalmologie  
 Anatomie Pathologique  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Gastro-Entérologie  
 Chimie Analytique  
 Anesthésie Réanimation  
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
 Neurologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Anatomie Pathologique  
 Radiologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie  
 Cardiologie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Ophtalmologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Urologie

- |                           |                             |
|---------------------------|-----------------------------|
| 325. Pr. MOUGHIL Said     | Chirurgie Cardio-Vasculaire |
| 326. Pr. NAOUMI Asmae*    | Ophtalmologie               |
| 327. Pr. SASSENOU ISMAIL* | Gastro-Entérologie          |
| 328. Pr. TARIB Abdelilah* | Pharmacie Clinique          |
| 329. Pr. TIJAMI Fouad     | Chirurgie Générale          |
| 330. Pr. ZARZUR Jamila    | Cardiologie                 |

### **Janvier 2005**

- |                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| 331. Pr. ABBASSI Abdellah           | Chirurgie Réparatrice et Plastique        |
| 332. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*      | Chirurgie Générale                        |
| 333. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid        | Microbiologie                             |
| 334. Pr. ALLALI Fadoua              | Rhumatologie                              |
| 335. Pr. AMAZOUZI Abdellah          | Ophtalmologie                             |
| 336. Pr. AZIZ Noureddine*           | Radiologie                                |
| 337. Pr. BAHIRI Rachid              | Rhumatologie                              |
| 338. Pr. BARKAT Amina               | Pédiatrie                                 |
| 339. Pr. BENHALIMA Hanane           | Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale |
| 340. Pr. BENHARBIT Mohamed          | Ophtalmologie                             |
| 341. Pr. BENYASS Aatif              | Cardiologie                               |
| 342. Pr. BERNOUSSI Abdelghani       | Ophtalmologie                             |
| 343. Pr. BOUKLATA Salwa             | Radiologie                                |
| 344. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed | Ophtalmologie                             |
| 345. Pr. DOUDOUH Abderrahim*        | Biophysique                               |
| 346. Pr. EL HAMZAOUI Sakina         | Microbiologie                             |
| 347. Pr. HAJJI Leila                | Cardiologie                               |
| 348. Pr. HESSISSEN Leila            | Pédiatrie                                 |
| 349. Pr. JIDAL Mohamed*             | Radiologie                                |
| 350. Pr. KARIM Abdelouahed          | Ophtalmologie                             |
| 351. Pr. KENDOUCI Mohamed*          | Cardiologie                               |
| 352. Pr. LAAROUSSI Mohamed          | Chirurgie Cardio-vasculaire               |
| 353. Pr. LYAGOUBI Mohammed          | Parasitologie                             |
| 354. Pr. NIAMANE Radouane*          | Rhumatologie                              |
| 355. Pr. RAGALA Abdelhak            | Gynécologie Obstétrique                   |
| 356. Pr. SBIHI Souad                | Histo-Embryologie Cytogénétique           |
| 357. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam  | Ophtalmologie                             |
| 358. Pr. ZERAIDI Najia              | Gynécologie Obstétrique                   |

### **AVRIL 2006**

- |                                 |              |
|---------------------------------|--------------|
| 400. Pr. ACHEMLAL Lahsen*       | Rhumatologie |
| 401. Pr. AKJOUJ Said*           | Radiologie   |
| 402. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra | Dermatologie |
| 403. Pr. BELMEKKI Abdelkader*   | Hématologie  |
| 404. Pr. BENCHEIKH Razika       | O.R.L        |
| 405 Pr. BIYI Abdelhamid*        | Biophysique  |

406. 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\*  
 441Pr. 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  
 431. Pr. SEFIANI Sana  
 432. Pr. SOUALHI Mouna  
 434. Pr. TELLAL Saida\*  
 435. Pr. ZAHRAOUI Rachida

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**

436. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
 437. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid  
 438. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar \*  
 439. Pr. BAITE Abdelouahed \*  
 440. Pr. TOUATI Zakia  
 441. Pr. OUZZIF Ezzohra\*  
 442. Pr. BALOUCH Lhousaine \*  
 443. 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\*

Anesthésie réanimation  
 Anesthésier réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Cardiologie  
 Biochimie  
 Biochimie  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale

472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
 450. Pr. GHARIB Nouredine  
 451. Pr. TABERKANET Mustafa \*  
 452. 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 \*  
 459. Pr. MRANI Saad \*  
 460. Pr. GANA Rachid  
 461. 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 \*  
 470. Pr. ACHACHI Leila  
 471. 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  
 478. Pr. SIFAT Hassan \*  
 479. Pr. HADADI Khalid \*  
 480. Pr. ABIDI Khalid  
 481. Pr. MADANI Naoufel  
 482. Pr. TANANE Mansour \*  
 483. Pr. AMHAJJI Larbi \*

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  
 Pneumo phtisiologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Pharmacie clinique  
 Pharmacie galénique  
 Psychiatrie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Radiothérapie  
 Radiothérapie  
 Radiothérapie  
 Réanimation médicale  
 Réanimation médicale  
 Traumatologie orthopédie  
 Traumatologie orthopédie

### **Décembre 2008**

484. Pr TAHIRI My El Hassan\*  
 485. Pr ZOUBIR Mohamed\*

Chirurgie Générale  
 Anesthésie Réanimation

### **Mars 2009**

486. Pr. BJIJOU Younes  
 487. Pr. AZENDOUR Hicham \*  
 488. Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
 489. Pr. BOUHSAIN Sanae \*

Anatomie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Biochimie

490. Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
491. Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
492. Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
493. Pr. AMAHZOUNE Brahim*	Chirurgie Cardio-vasculaire
494. Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
495. Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
496. Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
497. Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
498. Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
499. Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
500. Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
501. Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
502. Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
503. Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
504. Pr. DOGHMI Kamal*	Hématologie clinique
505. Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
506. Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
507. Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
508. Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
509. Pr. L'kassimiHachemi*	Microbiologie
510. Pr. AKHADDAR Ali*	Neuro-chirurgie
511. Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
512. Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
513. Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
514. Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
515. Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
516. Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
517. Pr. BASSOU Driss*	Radiologie
518. Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
519. Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
520. Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
521. Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
522. Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
523. Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

### **Octobre 2010**

524. Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
525. Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
526. Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
527. Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
528. Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
529. Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
530. Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
531. Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie

532. Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
533. Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
534. Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
535. Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
536. Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
537. Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
538. Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
539. Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
540. Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
541. Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
542. Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
543. Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
544. Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
545. Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

*\* Enseignants Militaires*

**ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES**

**PROFESSEURS**

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI LallaChadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootecnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie0
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE M <sup>ed</sup>	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique



# *Dédicaces*



بسم الله الرحمن الرحيم

"لقد كان لكم في رسول الله أسوة حسنة لمن كان

يرجو الله واليوم الآخر وذكر الله كثيرا"

صدق الله العظيم.

إلى سيدي محمد طب القلوب ودوائها وعافية الأبدان  
وشفائها ونور الأبصار وضيائها... المربي الكبير، القائد المرشد...

الطبيب الملهم، الزوج الصالح...

الأب الحنون، الموجه الرشيد... الرحمة المهداة والسراج المنير...

الذي جمع صفات الكمال الإنساني...

المصطفى المختار رسول الله صلى الله عليه وسلم.




*À ma très chère mère Mme Amina HARRAR*

*Je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens  
envers une mère exceptionnelle dont j'ai la fierté d'être la fille.*

*Tu t'es toujours donné beaucoup de mal pour m'offrir  
le meilleur de toi-même. Ta noblesse et ta bonté sont  
sans limites. Je n'ai jamais manqué de rien auprès de toi.*

*Que ce travail soit un hommage aux énormes  
sacrifices que tu t'es imposé afin d'assurer mon bien  
être. Puisse ce jour être la récompense de tous tes  
efforts et l'exaucement de tes prières tant formulés.*






*À mon père M. Maâti FOULAL*

*Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur  
des sentiments d'affection, d'estime et de respect  
envers un être cher.*

*J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personne,  
tu es pour moi le symbole de l'honnête, de la justice  
et de la bonté.*

*Puisse ton existence, pleine de droiture, de franchise et de  
sagesse me servir d'exemple dans l'exercice de ma profession.*

*Ce modeste travail paraît bien dérisoire pour traduire  
mon amour envers un père merveilleux,*





*À Mon très cher frère Rachid et sa femme*

*Amal et Leurs Petites Filles Malak et Sirine*

*Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer  
mon respect, ma considération et l'amour que  
j'éprouve envers vous.*

*Votre grand cœur et votre conscience du devoir fraternel  
me serviront d'exemple toute ma vie.*

*Ce travail n'est que le fruit de vos conseils  
précieux et de vos encouragements.*

*Puisse dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie.*





*À ma très chère sœur Majdouline*

*Et son mari Hamid et leur adorable fille Marwa*

*Que cette dédicace soit l'expression de mon affection et ma reconnaissance de l'aide précieuse que vous m'avez apporté.*

*Que dieu vous protège et vous aide à concrétiser vos espérances.*

*À mes très chère(s) petits frères et sœur*

*Soukaina, Hicham et Yassine.*

*L'amour que je vous porte est sans égal, vous êtes toujours pour moi des sœurs et frères bien aimé(e)s que j'apprécie énormément.*

*Merci, d'avoir montré tant de complaisance et de serviabilité à mon égard.*





*À mon oncle Fouad et sa femme Meryem.*

*À Toutes mes tantes et leurs maris :*

*Milouda, Fatna, Saâdia, Rabia, Nadia.*

*À tous mes cousins et cousines.*

*À toutes mes amies:*

*Asmae, Kaoutar, Fatima, Imane, Hasna, Jihane, Siham, zohra...*

*À tous ceux qui me sont chers*





# *Remerciements*





*À notre maître et président de thèse*

*Monsieur O. CHOKAIRI*

*Professeur d'Histologie Embryologie*

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter  
de présider ce travail.*

*Veillez trouver ici, l'expression de notre profond  
respect et notre grande reconnaissance.*






*À notre maître et rapporteur de thèse*

*Monsieur M. ZOUHDI*

*Professeur de Microbiologie*

*Vous m'avez fait le grand honneur d'accepter de me diriger dans ce travail avec bienveillance et rigueur. Votre attachement au travail bien fait est l'objet de ma considération.*

*Votre amabilité, Votre dynamisme, votre dévouement pour le travail et votre compétence ont suscité mon admiration.*





*À notre maître et juge de thèse*

*M<sup>me</sup> S.ELHAMZAOUI*

*Professeur de Microbiologie*

*Nous sommes très honorés de vous compter parmi  
le jury de notre thèse.*

*Puisse ce travail vous témoigner de nos sincères  
remerciements et notre profonde gratitude.*





*À notre maître et juge de thèse*

*M<sup>me</sup> S.TELLAL*

*Professeur de Biochimie*

*Vous avez accepté avec une grande amabilité de  
juger cette thèse.*

*Cet honneur nous touche infiniment et nous  
tenons à vous exprimer nos sincères remerciements et  
notre respect.*





*À notre maître*


*Monsieur K,SOULY*

*Professeur assistant de microbiologie*

*Vous m'avez fait le grand honneur d'accepter de me diriger  
dans ce travail avec bienveillance et rigueur. Votre attachement au travail bien  
fait est l'objet de ma considération.*

*Votre amabilité, Votre dynamisme, votre dévouement pour le travail et votre  
compétence ont suscité mon admiration.*

*Je garde un excellent souvenir de la qualité de  
l'enseignement  
que vous nous avez prodigué.*



*Listes des  
Abréviations, Figures et  
Tableaux*



## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>AMC</b>	Amoxicilline -Acide Clavulanique
<b>AN</b>	Amikacine
<b>ATM</b>	Aztréonam
<b>BMR</b>	Bactéries Multi-Résistantes
<b>C1G</b>	Céphalosporine de Première Génération
<b>C2G</b>	Céphalosporine de Deuxième Génération
<b>C3G</b>	Céphalosporine de Troisième Génération
<b>C4G</b>	Céphalosporine de Quatrième Génération
<b>CAZ</b>	Céftazidime
<b>CF</b>	Céphalothine
<b>CFM</b>	Céfixime
<b>CIN</b>	Cefsulodine-Irgasan-Novobiocine
<b>CIP</b>	Ciprofloxacine
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CRO</b>	Céftriaxone
<b>CTX</b>	Céfotaxime
<b>CTX-M</b>	Céfotaximase-Munich
<b><i>E.coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EAEC</b>	<i>E.Coli</i> Entéro-Agrégants
<b>EB</b>	Entérobactéries
<b>EBLSE</b>	Entérobactéries Productrices des Bêta-Lactamases à Spectre Elargi
<b>EHEC</b>	<i>E.Coli</i> Entérohémostatiques
<b>EIEC</b>	<i>E.Coli</i> Entéro-Invasifs
<b>ENZ</b>	Enzyme
<b>FQ</b>	Fluoroquinolone
<b>ETEC</b>	<i>E. Coli</i> Entérotoxinogènes
<b>ETP</b>	Ertapénème

<b>FEP</b>	Céfépime
<b>FF</b>	Fosfomycine
<b>FM</b>	Nitrofurantoine
<b>GES</b>	Guyana Extended-Spectrum Beta-Lactamase
<b>GM</b>	Gentamicine
<b>HISR</b>	Hôpital Ibn Sina de Rabat
<b>IPM</b>	Imipénème
<b>IβL</b>	Inhibiteur de β -Lactamase
<b>KES</b>	<i>Klebsiella-Enterobacter-Serratia</i>
<b>MAR</b>	Multiple Antibiotic Resistance
<b>MXF</b>	Moxifloxacin
<b>NA</b>	Acide Nalidixique
<b>NOR</b>	Norfloxacin
<b>OFX</b>	Ofloxacin
<b>OXA</b>	Oxacillinase
<b>PER</b>	Pseudomonas Extended Resistance
<b>PIP</b>	Pipéracilline
<b>PLP</b>	Protéines Liant la Pénicilline
<b>PPM</b>	<i>Proteus-Providencia-Morganella</i>
<b>R</b>	Espèce Résistante
<b>S</b>	Espèce Sensible
<b>SARM</b>	Staphylococcus Aureus Résistants à la Mécilline
<b>SHV</b>	Sulfhydryl Variable
<b>SS</b>	<i>Salmonella-Shigella</i>
<b>SXT</b>	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole
<b>TEM</b>	Temoniera-Nom Du Patient
<b>TIA</b>	Toxi-Infections Alimentaires
<b>TIC</b>	Ticarcilline
<b>TIM</b>	Ticarcilline-Acide clavulanique
<b>TM</b>	Tobramicine

<b>TRI</b>	Tem Résistantes aux Inhibiteurs
<b>TZP</b>	Pipéracilline-Tazobactam
<b>VEB</b>	Vietnam Extended-Spectrum Beta-Lactamase
<b>XLD</b>	Xylose-Lysine-Déoxycholate

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Classification des $\beta$ -lactamines : dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique.	<b>Page : 24</b>
<b>Figure 2</b>	Classification des $\beta$ -lactamines : dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et monobactames.	<b>Page : 26</b>
<b>Figure 3</b>	Acylation du site actif sérine d'une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) par une $\beta$ -lactamine.	<b>Page : 27</b>
<b>Figure 4</b>	Représentation schématique des principaux mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines.	<b>Page : 32</b>
<b>Figure 5</b>	Prévalence des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans le monde.	<b>Page : 49</b>
<b>Figure 6</b>	Les enzymes de la famille TEM.	<b>Page : 54</b>
<b>Figure 7</b>	Les enzymes de la famille SHV.	<b>Page : 55</b>
<b>Figure 8</b>	Analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-SSCP.	<b>Page : 61</b>
<b>Figure 9</b>	Analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-RFLP.	<b>Page : 61</b>
<b>Figure 10</b>	PCR en temps réel.	<b>Page : 65</b>
<b>Figure 11</b>	Test de synergie positif pour une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de BLSE.	<b>Page : 73</b>
<b>Figure 12</b>	Méthode des disques combinés (test positif).	<b>Page : 74</b>

<b>Figure 13</b>	Répartition globale des Entérobactéries selon les espèces.	<b>Page : 75</b>
<b>Figure 14</b>	Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries.	<b>Page : 76</b>
<b>Figure 15</b>	Répartition des souches des BLSE selon les mois d'isolement.	<b>Page : 77</b>
<b>Figure 16</b>	Répartition des souches des BLSE selon les services hospitaliers.	<b>Page : 79</b>
<b>Figure 17</b>	Répartition des souches des BLSE selon la nature des prélèvements.	<b>Page : 80</b>
<b>Figure 18</b>	Répartition des souches des BLSE selon le sexe.	<b>Page : 81</b>
<b>Figure 19</b>	Répartition des souches des BLSE selon les germes isolés.	<b>Page : 82</b>
<b>Figure 20</b>	Profil de résistance des BLSE aux Antibiotiques.	<b>Page : 84</b>
<b>Figure 21</b>	Répartition des BLSE au service de réanimation.	<b>Page : 85</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b>	Principaux caractères biochimiques des genres <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i> .	<b>Page : 18</b>
<b>Tableau II</b>	Exemples de systèmes d'efflux de bactéries à Gram négatif incluant les $\beta$ -lactamines dans leur spectre de substrat.	<b>Page : 31</b>
<b>Tableau III</b>	Classification des entérobactéries selon le phénotype de résistance naturelle.	<b>Page : 35</b>
<b>Tableau IV</b>	Correspondance entre les classifications moléculaire et fonctionnelle des $\beta$ -lactamases et résistances aux antibiotiques.	<b>Page : 38</b>
<b>Tableau V</b>	Facteurs de risque d'infection ou de colonisation par les BLSE.	<b>Page : 50</b>
<b>Tableau VI</b>	Les 4 groupes correspondant aux enzymes de la famille CTX-M.	<b>Page : 56</b>
<b>Tableau VII</b>	Différents antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.	<b>Page : 71</b>
<b>Tableau VIII</b>	Répartition globale des Entérobactéries selon les espèces.	<b>Page : 75</b>
<b>Tableau IX</b>	Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries.	<b>Page : 76</b>
<b>Tableau X</b>	Répartition des souches des BLSE selon les mois d'isolement.	<b>Page : 77</b>
<b>Tableau XI</b>	Répartition des souches des BLSE selon les services hospitaliers.	<b>Page : 78</b>

<b>Tableau XII</b>	Répartition des souches des BLSE selon la nature des prélèvements.	<b>Page : 80</b>
<b>Tableau XIII</b>	Répartition des souches des BLSE selon le sexe.	<b>Page : 81</b>
<b>Tableau XIV</b>	Répartition des souches des BLSE selon les germes isolés.	<b>Page : 82</b>
<b>Tableau XV</b>	Profil de résistance des BLSE aux Antibiotiques.	<b>Page : 83</b>
<b>Tableau XVI</b>	Répartition des BLSE au service de réanimation.	<b>Page : 85</b>
<b>Tableau XVII</b>	Comparaison des taux de résistance des E-BLSE aux $\beta$ -lactamines dans différentes études.	<b>Page : 97</b>
<b>Tableau XVIII</b>	Comparaison des co-résistances des E-BLSE dans différentes études.	<b>Page : 98</b>
<b>Tableau XIX</b>	Résultats cliniques chez des patients ayant des infections causées par les BLSE traités par FQ, Carbapénèmes, ou d'autres agents présentant une activité efficace in vitro.	<b>Page : 106</b>

# SOMMAIRE

Introduction .....	1
<b>Première partie :Étude bibliographique</b>	
I- Les Entérobactéries .....	5
I. 1.Caractéristiques générales .....	5
I.2. Épidémiologie .....	5
I.3. Pathogénie .....	6
I.3.1.Entérobactéries et infections nosocomiales .....	7
a. Infections urinaires .....	7
b. Infections pulmonaires .....	7
c. Infections des plaies .....	7
d. Bactériémies .....	8
e. Infections du système nerveux central .....	8
I. 4. Diagnostic au laboratoire .....	8
I.4.1. Prélèvement et transport .....	8
a. Échantillons d'origine extra-intestinale .....	8
b. Échantillons d'origine intestinale .....	8
1.4.2. Méthodes de détection directe .....	9
1.4.3. Culture .....	10
a. Milieux de choix .....	10
b. Conditions de culture .....	11
c. Morphologie des colonies .....	11
d. Milieux chromogènes .....	12
1.4.4. Identification .....	12
a. Systèmes d'identification .....	13
b. Identification spécifiques .....	13
1.4.5. Sérodiagnostic .....	14
I.5. Principales entérobactéries d'intérêt clinique .....	14
I.5.1.Escherichia coli .....	14
I.5.2. Salmonella .....	15
I.5.3. Shigella .....	15
I.5.4. Citrobacter freundii et autres Citrobacter .....	16
I.5.5. Klebsiella, Enterobacter, Serratia .....	16
I.5.6. Proteus-Morganella-Providencia .....	18
I.5.7. Yersinia enterocolitica .....	18

II-Les bêta-lactamines .....	20
II.1. Généralités-Historique .....	20
II.2. Classification des $\beta$ -lactamines .....	22
II.2.1. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique .....	23
II.2.2. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique .....	25
II.2.3. Monobactames .....	25
II.3. Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines .....	26
II.4. Mécanismes de la résistance bactérienne acquise aux $\beta$ -lactamines .....	28
II.4.1. Résistance non enzymatique .....	28
a- Imperméabilité de la membrane externe .....	28
b- Systèmes d'efflux .....	29
c- Modification des protéines liant la pénicilline .....	31
II.4.2. Résistance enzymatique .....	32
II.4.3. Approche phénotypique des entérobactéries en termes de résistance naturelle aux bêtalactamines .....	34
III- Les Bêta-Lactamases à Spectre Élargi (BLSE) .....	36
III. 1. Définition .....	36
III. 2. Classification .....	36
III.2.1. La classification d'Amblar .....	37
III.2.2. La classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros .....	37
III.2.3. Les Anciennes BLSE :BLSE dérivées des pénicillinases.....	39
a. BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient) .....	39
b. BLSE de type SHV (Sulfhydryl variable) .....	39
III.2.4. Les Nouvelles BLSE : BLSE non dérivées des pénicillinases.....	40
a. BLSE de type CTX-M (Céfotaximase -Munich) .....	40
b. BLSE de type PER (Pseudomonas extended resistance) .....	42
c. BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase)....	43
d. BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase) ...	44
e. Autres BLSE de classe A .....	44
f. BLSE de type OXA (Oxacillinase) .....	45
III.3. Épidémiologie mondiale des BLSE .....	46
III.3.1. Prélèvements à visée diagnostique .....	46
III.3.2. Colonisation .....	47
III.4. Facteurs de risque d'acquisition d'une bactérie BLSE .....	49
III.5. Conséquences des infections par une bactérie BLSE .....	51
III.6. Conséquences en termes de prescription d'antibiotiques .....	51
III.7. Détection des EBLSE par biologie moléculaire .....	52

III.7.1. Support génétique de la résistance .....	52
III.7.2. TEM .....	53
III.7.3. SHV .....	54
III.7.4. CTX-M .....	56
III.7.5. Différents phénotypes de résistance et difficulté de détection .....	57
III.7.6. Les techniques de détection moléculaire .....	58
a. Sondes d'ADN .....	58
b. Oligotyping .....	59
c. PCR .....	59
d. PCR-SSCP .....	60
e. PCR-RFLP .....	61
f. Ligase Chain Reaction .....	63
g. PCR en temps réel .....	64
h. Séquençage .....	65
i. Miniséquençage .....	66

## **Deuxième partie :Partie pratique**

I-Introduction .....	68
II- Matériels et méthodes .....	68
II.1. Période d'étude.....	68
II.1.1. Nature des prélèvements étudiés .....	69
II.1.2. Services originaires des souches .....	69
II.2. Souches bactériennes et leur sensibilité aux antibiotiques .....	69
II.2.1. Souches bactériennes .....	69
II.2.2. Critères d'inclusion .....	69
II.2.3. Élimination des doublons .....	70
II.2.4. Isolement et identification bactérienne .....	70
II.2.5. Étude de la sensibilité aux antibiotiques .....	70
II.2.6. Détection du caractère BLSE .....	72
a. Méthodes manuelles : Méthode de la diffusion en milieu gélosé.....	72
a.1. Test de détection par synergie .....	72
a.2. Méthode des disques combinés .....	73
b. Méthodes automatiques .....	74
III-Résultats .....	75
III.1. Répartition globale des Entérobactéries selon les espèces .....	75
III.2. Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries.....	76
III.3. Répartition des souches des BLSE selon les mois d'isolement.....	77
III.4. Répartition des souches des BLSE selon les services hospitalier.....	78

III.5.Répartition des souches des BLSE selon la nature des prélèvements .....	80
III.6. Répartition des souches des BLSE selon le sexe .....	81
III.7.Répartition des souches des BLSE selon les germes isolé .....	82
III.8.Profil de résistance des BLSE aux Antibiotiques .....	83
III.9.Répartition des BLSE en service de réanimation.....	85
IV- Discussion .....	86
IV.1. Épidémiologie des Entérobactéries productrices de BLSE.....	86
IV.1.1. Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries .....	86
IV.1.2.Répartition des souches des E-BLSE selon les services d'origine ..	88
IV.1.3.Répartition des souches des EBLSE selon la nature des prélèvements .....	89
IV.1.4.Répartition des souches des E-BLSE selon le sexe .....	90
IV.1.5.Répartition des souches des E-BLSE selon les germes isolés .....	90
IV.1.6.Répartition des souches des E-BLSE selon les mois d'isolement ...	91
IV.2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques .....	92
IV.3.Traitement et prévention .....	99
IV.3.1.Prévention de l'acquisition des E-BLSE en milieu hospitalier et dépistage actif .....	99
IV.3.2. Alternatives thérapeutiques pour les infections à E-BLSE .....	100
a-Céphalosporines .....	101
b-Association $\beta$ -lactamine / I $\beta$ L .....	102
c- Céphamycines .....	103
d-Carbapénèmes .....	103
e-Fluoroquinolones .....	105
f- Tigécycline .....	107
g-Aminoglycosides .....	107
h- Perspectives .....	108
Conclusion .....	109



*Introduction*

La résistance aux agents antimicrobiens, qui était reconnue depuis plus de 50 ans, continue d'être une source majeure de mortalité, et de l'augmentation du coût de soins de santé. <sup>[1]</sup>

Au Maroc comme partout dans le monde, la maîtrise de la diffusion des bactéries multi-résistantes (BMR) est une priorité dans la lutte contre les infections nosocomiales. Parmi les pathogènes labellisés BMR, les deux principaux sont représentés par *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), et par les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (E-BLSE). Ces dernières ont été décrites pour la première fois en 1983<sup>[2]</sup> et ont causé depuis de nombreuses épidémies. <sup>[3]</sup>

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes acquises par les entérobactéries leur permettant d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame, et leur conférant une résistance aux  $\beta$ -lactamines à l'exception des carbapénèmes et céphamycines et qui sont la cible des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases comme l'acide clavulanique. <sup>[4]</sup> La transmission, surtout plasmidique, de ce mécanisme de résistance antibiotique est responsable de sa dissémination mondiale et de l'augmentation de sa prévalence. <sup>[5]</sup>

Les études génétiques ont montré que les BLSE dérivait par mutation(s) ponctuelles(s) d'anciennes bêta-lactamases de type TEM-1, TEM-2 et SHV-1<sup>[6]</sup> appartenant à la classe A des bêta-lactamases selon la classification d'AMBLER. <sup>[7,8]</sup> La dénomination des bêta-lactamases n'obéit à aucune règle précise de nomenclature. En effet, la première enzyme dénommée TEM a été isolée d'un malade appelé « TEMONIERA ». <sup>[9]</sup> Alors que celle du type SHV

correspond à une propriété biochimique « sulphydryl variable » de cette bêta-lactamase.

Actuellement, environ plus de 230 types de BLSE ont été identifiés partout dans le monde et chez de nombreuses espèces de la famille des Enterobacteriaceae et *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>[10]</sup>

Dans le cadre de la surveillance et de la lutte contre l'émergence et la dissémination des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi, le laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Ibn Sina de Rabat (HISR) a réalisé une étude prospective des différents prélèvements biologiques provenant de différents services pendant une période de sept mois dont l'objectif est :

- ❖ De déterminer la prévalence d'isolement des entérobactéries productrices de « BLSE » ;
- ❖ De déterminer le profil de résistance aux antibiotiques ;
- ❖ D'étudier l'épidémiologie des souches d'entérobactéries productrices de BLSE ;
- ❖ De formuler des recommandations pour la maîtrise de la diffusion de ces BLSE.

Première partie :  
Étude Bibliographique

**I- Les Entérobactéries :** [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18,19]**I. 1.Caractéristiques générales :**

Les membres de la famille des Enterobacteriaceae sont tous des bacilles à Gram négatif, fermentent le glucose, oxydase-négatifs, se développent sur gélose MacConkey; la plupart réduisent les nitrates en nitrites.

**I.2. Épidémiologie :**

Les entérobactéries ont pour habitat un grand nombre de niches variées comprenant le tractus gastro-intestinal de l'Homme ou des animaux ainsi que des sites environnementaux variés. Certaines sont responsables de zoonoses et associées à des infections chez les animaux.

Quelques-unes des espèces qui font partie de la flore humaine normale peuvent parfois être responsables d'infections chez un patient. Il s'infecte ainsi avec ses propres bactéries (souches dites endogènes). Ces bactéries peuvent également passer d'un individu à l'autre. De telles infections dépendent le plus souvent de l'état d'immunodéficience du patient et sont le plus souvent acquises à l'hôpital. *Escherichia coli* représente une des causes les plus fréquentes d'infections nosocomiales mais également la cause la plus fréquente d'infection du tractus urinaire chez des sujets non hospitalisés.

D'autres espèces telles *Salmonella spp.* *Shigella spp.* et *Yersinia enterocolitica* sont retrouvées dans le tube digestif uniquement lors d'infection. Elles sont généralement acquises par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés. C'est également le mode de contamination habituelle de nombreux types d'*E. Coli* responsables d'infections gastro-intestinales. Une espèce, *Yersinia pestis*, l'agent de la peste, fait exception puisqu'il s'agit de la seule espèce

transmise de l'animal à l'Homme par l'intermédiaire d'une piqûre d'insecte, le plus souvent la puce.

### **I.3. Pathogénie :**

On peut distinguer deux groupes d'entérobactéries : les pathogènes opportunistes et les pathogènes vrais.

• **Les pathogènes opportunistes** : les plus souvent rencontrés sont les bactéries des genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Serratia*. Bien que considérés comme opportunistes, ils produisent des facteurs de virulence comme des endotoxines qui peuvent être responsables d'infections fatales. Cependant, comme ils ne sont pas habituellement à l'origine d'infection chez le sujet en bonne santé et immunocompétent, ils sont donc considérés comme opportunistes.

• **Les pathogènes vrais** : sont représentés par exemple, par *Salmonella* Typhi responsable de la typhoïde, *Shigella dysenteriae* responsable de la dysenterie et *Yersinia pestis* agent de la peste. Leur mise en évidence dans un prélèvement clinique devra toujours être prise en considération. Ces organismes produisent des facteurs de virulence qui peuvent générer des infections très graves.

Bien que *E. coli* soit un habitant normal du tube digestif, sa classification est quelquefois difficile entre les pathogènes vrais et les opportunistes. Des souches de cette espèce comme *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) et *E. coli* entéro-agrégants (EAEC) expriment des toxicités particulières qui peuvent être responsables d'infections gastro-

intestinales graves. De plus, dans le cas des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), des infections mortelles sont quelquefois observées.

### **I.3.1. Entérobactéries et infections nosocomiales :**

Dans le cadre des infections nosocomiales, les entérobactéries représentent environ 30 à 35 % des bactéries, tous sites confondus et 80 % de l'ensemble des bacilles à Gram négatif.

#### **a. Infections urinaires :**

Environ 70 % sont représentées par des entérobactéries, surtout *E. coli* mais aussi *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.* ou *Proteus mirabilis*. Les facteurs de risque sont surtout liés à l'hôte et à la présence d'un cathéter intravésical.

#### **b. Infections pulmonaires :**

Les entérobactéries les plus souvent rencontrées sont *Enterobacter spp.* et *Klebsiella pneumoniae*. Elles sont le plus souvent rencontrées lorsque la pneumopathie est tardive par exemple après 4 jours de ventilation.

#### **c. Infections des plaies :**

Environ 25 % des infections des plaies opératoires sont causées par des entérobactéries. La plupart du temps, il s'agit d'*E. Coli* ou d'*Enterobacter spp.* La nature du pathogène isolé varie selon le site opératoire et le type de chirurgie.

Elles sont le plus souvent acquises par voie exogène, le mode de transmission étant essentiellement féco-oral et par la nourriture contaminée.

**d. Bactériémies :**

Les entérobactéries ne constituent pas la principale cause de bactériémies acquises à l'hôpital. Dans ce cas, les bactéries les plus souvent rencontrées sont *E. coli*, *Enterobacter spp.* et *Klebsiella pneumoniae* et leur porte d'entrée la plus fréquente est le tractus urinaire. La porte d'entrée digestive est également très importante chez les sujets immunodéprimés notamment à la suite de greffe ou en cas de chimiothérapie.

**e. Infections du système nerveux central :**

Elles se rencontrent le plus souvent dans le service de neurochirurgie et sont le plus souvent causées par *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

**I. 4. Diagnostic au laboratoire :****I.4.1. Prélèvement et transport :**

Il n'y a pas de recommandations particulières.

**a. Échantillons d'origine extra-intestinale :**

Les entérobactéries peuvent être isolées de sites très variés de l'organisme : la procédure normale de recueil de ces échantillons (sang, tractus respiratoire, plaies, urines et autres) est alors suivie.

**b. Échantillons d'origine intestinale :**

Les principales entérobactéries en cause dans les diarrhées sont les *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica* et certains sérotypes d'*E. Coli*.

La procédure de recueil des selles, de transport est alors suivie. Les selles sont placées dans un récipient stérile ou propre fermé de façon hermétique.

À partir de l'échantillon de selles, choisir de préférence les fragments purulents, muqueux ou sanglants s'ils existent.

• **Écouvillonnage rectal :**

Il est pratiqué lorsque l'examen est fait au laboratoire, ou si le sujet ne peut déféquer ou quelquefois chez l'enfant et le nourrisson. L'échantillon est recueilli à l'aide d'un échantillon de coton sur une tige de bois en grattant la muqueuse anale en dépassant le canal anal.

Il peut être quelquefois utile de rechercher les bactéries entéropathogènes dans les aliments et les vomissements.

Si l'échantillon ne peut être traité dans l'heure qui suit le prélèvement, il est possible de le conserver au froid (4-8 °C) pour une période n'excédant pas 4 heures.

Si un procédé rapide (< 2 heures après le prélèvement) d'acheminement au laboratoire n'est pas possible, il est conseillé de placer une « noisette » de selles ou un écouvillon provenant d'un prélèvement rectal dans un milieu de transport comme le milieu de Cary-Blair, Stuart ou un soluté salin glycérolé et tamponné qui permet une survie estimée à 24 heures.

**1.4.2. Méthodes de détection directe :**

À l'exception de la coloration de Gram, il n'y a pas de recommandation particulière pour la détection directe de la plupart des Enterobacteriaceae. Au microscope, les cellules apparaissent généralement coccobacillaires ou comme des bacilles droits aux extrémités arrondies.

### 1.4.3. Culture :

Les entérobactéries se développent facilement sur la plupart des milieux utilisés au laboratoire de bactériologie de routine, en particulier le milieu de MacConkey ou le BCP. Les entérobactéries les plus fréquemment rencontrées ont un aspect caractéristique sur gélose au sang ou gélose de MacConkey utile pour l'identification présomptive.

#### a. Milieux de choix :

La plupart des entérobactéries se développent bien sur les milieux habituellement utilisés en routine tels que la gélose au sang de mouton à 5 %, la gélose chocolat ou de MacConkey. En plus de ces milieux, des milieux sélectifs comme Hektoen, XLD (xylose-lysine-déoxycholate) ou SS (*Salmonella-Shigella*) sont habituellement proposés pour la culture des pathogènes entériques du tractus gastro-intestinal.

Le milieu gélosé CIN (cefsulodine-irgasan-novobiocine) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement d'*Y. enterocolitica* des échantillons du tractus gastro-intestinal. De même, des milieux gélosés sorbitol-MacConkey sont proposés pour différencier les souches d'*E. Coli* O157:H7 sorbitol négatives des autres types d'*E. Coli* qui sont capables de fermenter ce sucre.

Les bouillons utilisés dans les systèmes d'hémoculture comme les bouillons au thioglycolate et les milieux dits « cœur-cerveau » conviennent bien à la croissance des entérobactéries.

**b. Conditions de culture :**

Dans des conditions habituelles, la plupart des entérobactéries se développent aussi bien en milieu liquide que sur milieu gélosé en 24 heures. Pour l'isolement, des milieux gélosés contenant 5 % de sang de mouton sont habituellement mis à incuber à 35 °C sous une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> ou à l'air ambiant. Les milieux plus sélectifs (MacConkey, SS, XLD) doivent être incubés dans l'atmosphère ambiante. Seule *Yersinia pestis* fait exception car elle se développe mieux à 25-30 °C qu'à 35 °C.

**c. Morphologie des colonies**

Toutes les entérobactéries produisent une croissance identique sur gélose au sang et gélose chocolat. Les colonies apparaissent de grandes tailles, grises et lisses. Les colonies de *Klebsiella* et d'*Enterobacter* peuvent apparaître muqueuses du fait de la présence d'une capsule polysaccharidique. *E. coli* est souvent bêtahémolytique sur gélose au sang mais la plupart des autres genres sont non hémolytiques.

Des espèces très mobiles comme *Proteus mirabilis*, *P. penneri* et *P. vulgaris* peuvent être capables d'envahir («swarm») la gélose au sang ou chocolat en formant un film fin à la surface de la gélose («swarming»). Des milieux déficients en électrolytes comme le milieu CLED empêchent ce phénomène.

Les colonies d'*Y. pestis* se présentent en tête d'épingle après 24 heures d'incubation mais ressemblent aux autres entérobactéries après 48 heures. Les milieux CIN utilisés pour l'identification présomptive d'*Y. enterocolitica*

devront être incubés au moins 48 heures pour permettre le développement de colonies caractéristiques en «œil de taureau».

**d. Milieux chromogènes :**

En résumé, tous les milieux permettent l'identification :

- Au niveau de l'espèce, de *E. coli* et *Proteus mirabilis*;
- Au niveau du genre, des entérocoques.

De plus, ils permettent la classification d'autres micro-organismes :

- Soit dans le groupe ***Proteus-Providencia-Morganella* (PPM)** pour les colonies de couleur marron ou entourées d'un halo marron;
- Soit dans le groupe ***Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (KES)** pour les colonies bleues dont l'examen direct correspond à des bacilles.

Pour *E. coli* l'identification se fait par la couleur rose des colonies ainsi qu'un test d'indole positif. Pour la couleur rose des colonies, certains milieux utilisent la  $\beta$ -glucuronidase et d'autres utilisent la  $\beta$ -galactosidase comme enzyme de détection/identification. La  $\beta$ -glucuronidase est un peu moins sensible mais un peu plus spécifique que la  $\beta$ -galactosidase.

Pour *Salmonella*, de nombreux milieux chromogéniques ont été proposés.

**1.4.4. Identification :**

Les entérobactéries fermentent le glucose, sont oxydase-négatives et pour la plupart réduisent les nitrates en nitrites. De plus, à l'exception de *Shigella dysenteriae* type 1, la plupart des entérobactéries habituellement retrouvées sont catalase-positives.

Des systèmes d'identification commercialisés permettent de reconnaître facilement la plupart des entérobactéries habituellement retrouvées en clinique. Selon les systèmes, les résultats peuvent être obtenus en 4 heures ou après une nuit d'incubation. Les bases de données tiennent généralement compte des caractères atypiques ou des biotypes inhabituels.

Parmi les tests de base, de nombreux laboratoires utilisent le test d'indole sous forme d'un spot afin de faire le diagnostic présomptif rapide d'*E. Coli*. Ce test peut également être utilisé pour séparer les souches envahissantes de *Proteus* comme *P. mirabilis* et *P. penneri* qui sont négatives, des souches de *P. vulgaris* qui sont indole-positives.

#### **a. Systèmes d'identification**

L'emploi de systèmes dits classiques d'identification conventionnelle utilisant par exemple des tubes contenant des milieux type Kligler, fermentation des hydrates de carbone, milieux de Moeller pour l'étude des décarboxylases, milieu à la gélatine, milieu d'urée-indole de Ferguson, test d'hydrolyse de l'hippurate... a été dans la plupart des cas progressivement abandonné au bénéfice de méthodes commercialisées miniaturisées.

#### **b. Identification spécifiques :**

Dans le cas des *Salmonella spp.* et *Shigella spp.* , le sérotypage permet une identification définitive.

Dans la plupart des laboratoires, le sérotypage des entérobactéries se limite aux *Salmonella*, *Shigella* et à *E. Coli* O157 :H7. Il est préférable de réaliser le typage à partir d'un milieu ne contenant pas de sucre comme la gélose au sang

de mouton à 5 %. L'utilisation de milieux contenant des sucres comme le MacConkey peut provoquer une autoagglutination des souches bactériennes.

#### **1.4.5. Sérodiagnostic :**

Les techniques de sérodiagnostic ne sont utilisées que pour deux entérobactéries, *Salmonella Typhi* et *Yersinia pestis*. Les anticorps agglutinants peuvent être mesurés pour le diagnostic de la fièvre typhoïde. Le test sérologique de Widal Félix pour la mise en évidence d'agglutinines de *S. Typhi* a été proposé mais est de moins en moins utilisé de nos jours du fait de résultats souvent peu reproductibles.

Le diagnostic sérologique de la peste est possible en utilisant des tests d'hémagglutination passive ou ELISA; ces tests sont habituellement réalisés dans des laboratoires de référence.

### **I.5. Principales entérobactéries d'intérêt clinique :**

#### **I.5.1. Escherichia coli :**

*Escherichia coli* appartient au genre *Escherichia*, il fait partie de la flore microbienne de la partie terminale du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud.

Il s'agit de bactéries commensales du tube digestif pouvant éventuellement se comporter en pathogènes opportunistes et être responsables :

- Soit d'infections extra-intestinales;
- Soit d'infections intestinales.

### **I.5.2. Salmonella :**

On distingue classiquement les infections dues aux salmonelles en deux grands groupes : les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes de pronostic souvent très sombre et les salmonelloses de TIA (toxi-infections alimentaires) causées par des salmonelles dites mineures ou ubiquistes.

### **I.5.3. Shigella :**

Les *Shigella* ne peuvent être distinguées des *Escherichia* (dont *E. coli*) par hybridation ADN/ADN et devraient donc être réunies en un genre unique. Néanmoins, pour des raisons historiques et médicales, le genre *Shigella* a été conservé. Il est divisé en quatre espèces *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. Sonnei*, dont chacune comporte un certain nombre de sérotypes.

#### **•Distribution géographique :**

*Shigella* est rencontrée partout dans le monde. L'incidence de l'infection variant bien sûr en fonction de critères sanitaires. La shigellose atteint surtout les enfants de moins de 5 ans et habitant les régions défavorisées du globe. Il y aurait plusieurs millions de cas annuels ce qui entraînerait une mortalité, surtout infantile, de l'ordre de 10 %.

#### **•Caractères biochimiques :**

Les *Shigella* présentent de nombreux caractères négatifs. Les principaux sont :

Immobilité; lactose-; H<sub>2</sub>S-; LDC-; citrate de Simmons-; gaz- (rares exceptions); uréase-.

#### **I.5.4. *Citrobacter freundii* et autres *Citrobacter* :**

C'est une bactérie commensale du tube digestif de l'homme et des animaux.

##### **•Culture :**

Les différentes espèces de *Citrobacter* se multiplient bien sur les milieux usuels, en particulier sur ceux utilisés lors de coproculture (milieux SS, Drigalki...) où elles apparaissent généralement lactose-positives, ce qui les différencie des *Salmonella* et *Shigella* qui sont lactose-négatives.

##### **•Caractères biochimiques :**

Les principaux caractères biochimiques sont les suivants :

Mobilité +; citrate +; fermentation du glucose avec production de gaz; ONPG +; H<sub>2</sub>S +; LDC -, ADH -; ODC - (10-15 % des souches ODC +); indole -, uréase -, TDA -, VP -, gélatine -; la culture sur milieux usuels produit une odeur nauséabonde.

Les souches de *Citrobacter* lactose-négatives ne sont pas rares et peuvent alors être différenciées de *Shigella* par leur caractère H<sub>2</sub>S positif et par leur absence d'agglutination par les sérums anti-*Shigella*.

#### **I.5.5. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* :**

Ces bactéries composent le groupe KES et ont le caractère VP + en commun à l'exception de *Klebsiella ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* qui sont VP.

En milieu hospitalier où elles sont très souvent rencontrées, elles sont considérées comme des bactéries « pathogènes opportunistes » et présentent souvent une multirésistance aux antibiotiques.

**•Klebsiella :**

*Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* est, avec *Klebsiella oxytoca*, la plus pathogène des *Klebsiella*. *K. planticola*, *K. terrigena* et *K. ornithinolytica* sont quelquefois rencontrées dans des prélèvements cliniques et apparaissent comme des bactéries opportunistes.

Parmi les *Klebsiella* rarement isolées, *K. pneumoniae subsp. ozaenae* est responsable d'une rhinite atrophique appelée ozène et d'infections de la sphère ORL, de l'arbre respiratoire et quelquefois d'infections au niveau cérébral (méningites, abcès).

*K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* est l'agent du rhinosclérome qui correspond à une infection chronique des voies aériennes supérieures.

**•Enterobacter :**

Les principaux caractères biochimiques d'orientation du genre sont la dégradation des acides aminés (ADH, ODC, LDC), la production d'acétoïne et la production d'une uréase.

**•Serratia :**

Dans la majorité des cas, les bactéries du genre *Serratia* les plus souvent rencontrées en clinique présentent les caractères suivants :

ONPG +; VP +; rhamnose -; gélatinase +; saccharose +; mélibiose +; raffinose +; glycérol +.

### I.5.6. *Proteus-Morganella-Providencia* :

Les principaux caractères biochimiques à l'intérieur des genres *Proteus-Morganella-Providencia* sont reportés dans le **Tab. I** :

**Tableau I:** Principaux caractères biochimiques des genres *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (d'après <sup>[20]</sup>).

Test Biochimique	<i>Proteus Mirabilis</i> ( <i>Proteus vulgaris</i> )	<i>Morganella</i>	<i>Providencia</i>
Fermentation du glucose	+	+	+
Réduction des nitrates en nitrites	+	+	+
Métabolisme du tryptophane en indole	-/(+)	+	
ONPG	-	-	-
H <sub>2</sub> S	+	-	-
Uréase	+	+	variable
TDA	+	+	+
VP		-	-
Gélatinase		-	-
Ornithine décarboxylase	+/(-)		

### I.5.7. *Yersinia enterocolitica* :

Il s'agit d'un groupe hétérogène de bactéries comprenant à la fois des «pathogènes vrais » mais également des souches environnementales ubiquitaires dans les écosystèmes terrestres ou d'eaux douces. L'espèce comporte un grand nombre de phénotypes variés dont quelques-uns seulement sont associés à des infections chez l'homme et les animaux. Quelques sérogroupes sont plus fréquemment impliqués en pathologie humaine comme O : 3, O : 9, O : 8 et O : 5,27 répartis dans des zones géographiques distinctes.

*Yersinia enterocolitica* qui est une bactérie « adaptée aux température basses » est capable de se reproduire à des températures proches de 0 °C et ainsi de contaminer des aliments conservés au réfrigérateur. Elle est également capable de survivre dans des aliments congelés pendant de très longues périodes.

## II-Les bêta-lactamines :

### II.1. Généralités-Historique :<sup>[21]</sup>

La famille des  $\beta$ -lactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence d'un cycle  $\beta$ -lactame indispensable à l'activité antibiotique (**Fig.1**), une faible toxicité, associées à un mode d'action fort complexe sur des protéines de la membrane cytoplasmique, dénommées protéines liant la pénicilline (PLP) ou *penicillin binding proteins*.

Duchesne, élève de l'école du service de santé militaire de Lyon (1874-1912), dans sa thèse de médecine soutenue en 1897, « Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes. Antagonisme entre les moisissures et les microbes », avait déjà remarqué l'existence d'un antagonisme entre les moisissures et les bactéries : des cobayes ayant reçu un bouillon de culture de *penicillium glaucum* en même temps que des cultures très virulentes de bacille d'Eberth résistaient à l'infection microbienne alors que les cobayes témoins mouraient rapidement.

En 1928, Fleming (1881-1955), professeur de bactériologie à Londres, observa sur une boîte de Pétri, qui contenait une culture de staphylocoques et qui avait été contaminée accidentellement par une moisissure, que les colonies de staphylocoques situées à proximité de la moisissure avaient été lysées. Il identifia cette moisissure comme étant un *Penicillium* et réussit à préparer un « jus de moisissure » qu'il appela pénicilline.

Ce n'est qu'en 1940 qu'une équipe de chercheurs d'Oxford, Florey, Chain et Heatley, réussit à obtenir une pénicilline concentrée, partiellement purifiée et stable. Le premier cas de septicémie à staphylocoque fut traité en 1941 à Oxford

et, en 1943, les armées alliées commencèrent à recevoir des quantités importantes de 15 pénicillines. Une fois déterminée la structure biochimique du noyau de base de toutes les pénicillines, l'acide amino-6-pénicillanique en 1959 (**Fig.1**), il fut possible de modifier des molécules d'origine naturelle pour obtenir des antibiotiques semi-synthétiques possédant des propriétés bactériologiques et pharmacologiques encore plus intéressantes. En effet, la résistance de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline devient un problème majeur au début des années 1960, affectant l'ensemble des hôpitaux et de plus, à partir de cette époque, les bacilles à Gram négatif prennent une place croissante en pathologie infectieuse. On prépara ainsi des pénicillines résistantes aux pénicillinases du staphylocoque (méthicillines, 1960 ; oxacilline, 1962) et des pénicillines à large spectre actives sur les bactéries à Gram négatif comme l'ampicilline (1963) ou la carbénicilline (1970).

La première céphalosporine, la céphalotine, fut préparée en 1962 à partir de la céphalosporine C, produite par une culture de *Cephalosporium* que Botzu, en 1945, avait isolée d'une eau d'égout à Cagliari et dont il avait montré la forte activité antibiotique.

L'acquisition de résistances à ces molécules stimula la recherche et la mise sur le marché de nouvelles molécules s'accéléra avec l'apparition des céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, 1981), des carbapénèmes (imipénème, 1985) et des monobactames (aztréonam, 1986). En parallèle, de nouvelles pénicillines comme les uréidopénicillines (pipéracilline, 1981) et des associations à des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases voyaient le jour : amoxicilline-acide clavulanique en 1984, ampicilline-sulbactam en 1986 et pipéracilline-tazobactam en 1993.

L'utilisation massive et parfois abusive des antibiotiques, et des  $\beta$ -lactamines en particulier, en ville comme à l'hôpital, a modifié considérablement l'écologie bactérienne. Les résistances de plus en plus fréquentes rencontrées chez les bactéries posent des difficultés et parfois des impasses en thérapeutiques humaines. La mise au point de nouvelles molécules est de plus en plus coûteuse et, depuis les années 1990, cette course marque le pas et tourne à l'avantage du génie bactérien, justifiant la mise en place de politiques de bon usage des antibiotiques afin d'épargner au maximum l'activité des molécules existantes. En effet, la bonne utilisation des  $\beta$ -lactamines dans une politique globale de prescription raisonnée des antibiotiques est indispensable pour que cette famille d'antibiotique majeure garde toute sa place en thérapeutique.

## II.2. Classification des $\beta$ -lactamines :

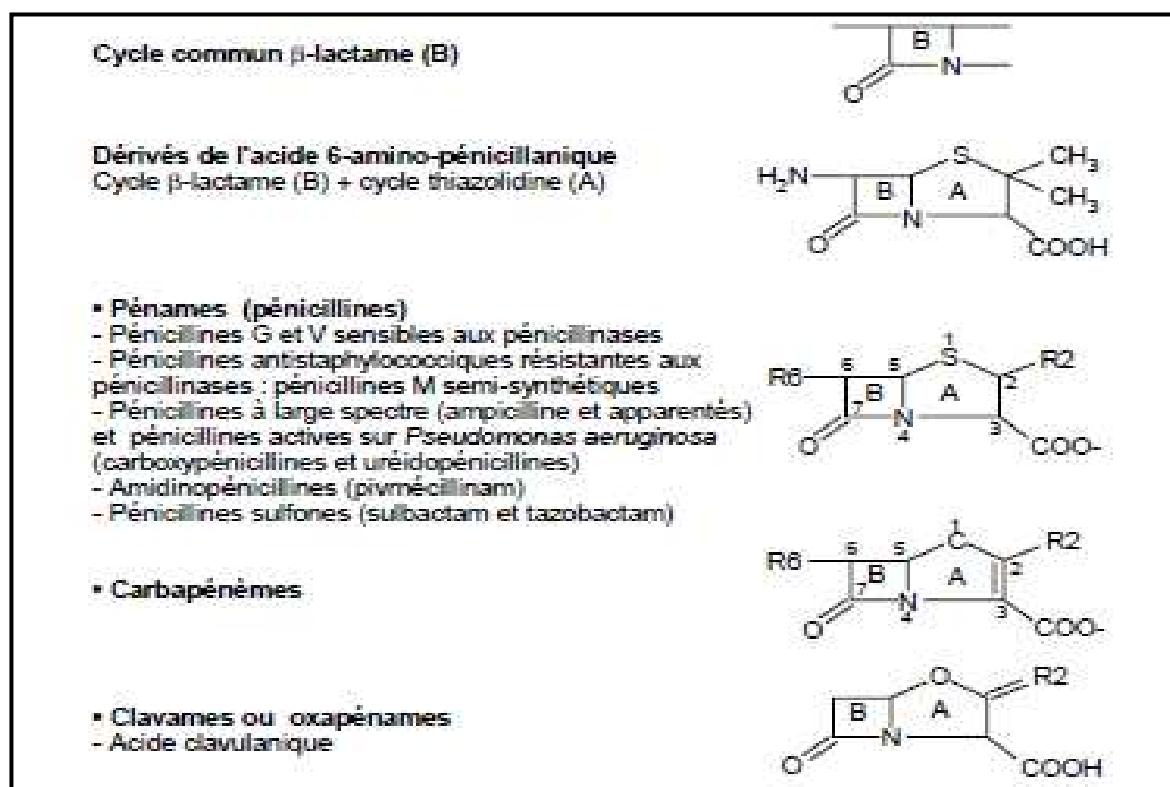
La majorité des  $\beta$ -lactamines, dont le représentant le plus ancien est la pénicilline G, sont maintenant obtenues par hémisynthèse. Les  $\beta$ -lactamines, qu'elles soient naturelles ou produites par hémisynthèse, sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans leur structure de base.<sup>[22]</sup>

La structure du noyau de base, qui comporte toujours le cycle  $\beta$ -lactame, permet de répartir ces produits en trois grands groupes (**Fig. 1, 2**) : les dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique, les dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et les monobactames.<sup>[21]</sup>

### II.2.1.Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique : <sup>[21]</sup>

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle thiazolidine, spécifique des pénicillines. Il intègre le grand groupe des  $\beta$ -lactamines ayant un noyau péname, caractéristique des pénicillines, parmi lesquelles il y a lieu de distinguer au moins sept sous-groupes différenciés par leur structure chimique, leur stabilité, leur spectre et leur activité antibactérienne. Ce sont (**Fig. 1**) : les phénoxy-pénicillines et analogues de la pénicilline G, la méthicilline et les isoxazoly-pénicillines, les aminopénicillines, les carbo-xypénicillines, les acyluréidopénicillines, les amidinopénicillines, les pénicillines sulfonées et les méthoxycarboxypénicillines. Cette liste n'est pas close en raison de l'individualisation d'un nouveau type de pénicilline (N-formamidinopénicilline) dont l'activité antibactérienne est ostensiblement améliorée.

D'autres  $\beta$ -lactamines ont un noyau qui dérive du noyau péname par substitution du soufre en position 1 (**Fig. 1**) :



**Figure 1 :** Classification des  $\beta$ -lactamines : dérivés de l'acide

**6-amino-pénicillanique.** <sup>[21]</sup>

➤ la substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un oxygène est à l'origine du noyau clavame ; l'acide clavulanique est la seule molécule naturelle actuellement commercialisée dans ce groupe ;

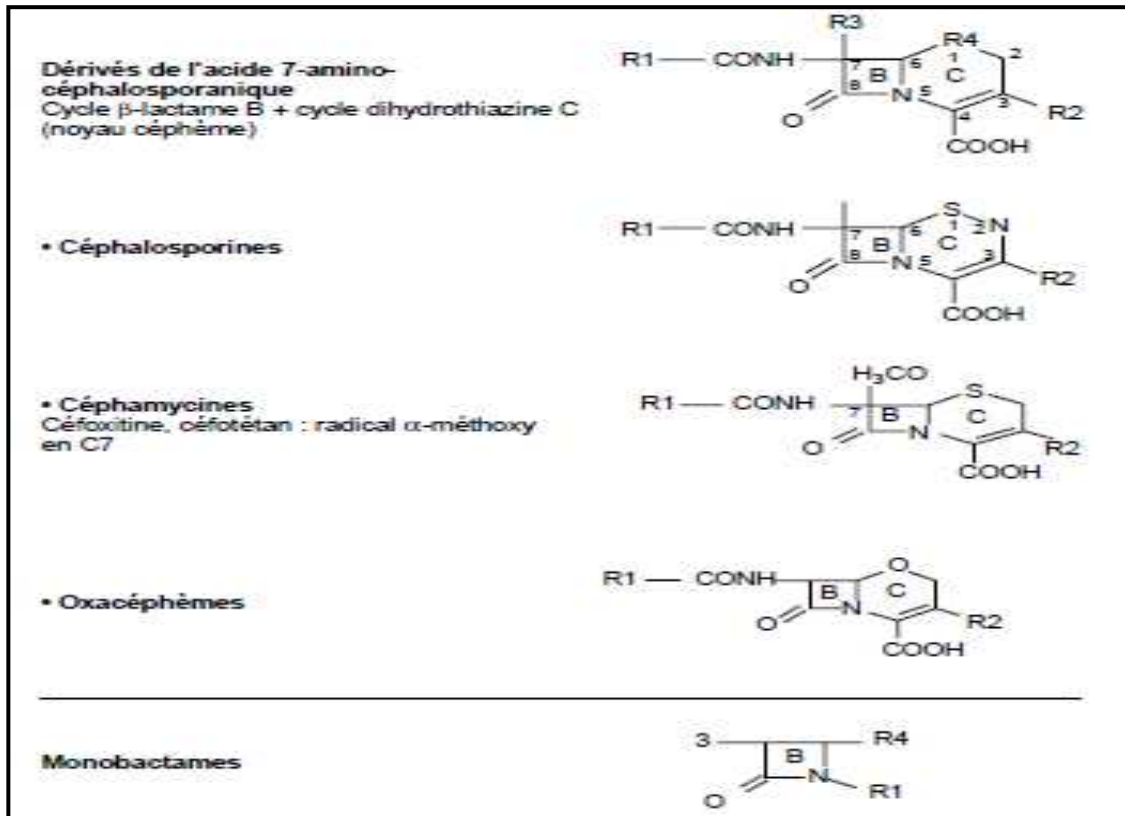
➤ la substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un atome de carbone est à l'origine du noyau pénème; les carbapénèmes les plus connus sont l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème.

### II.2.2.Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique : <sup>[21]</sup>

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-amino-céphalosporanique ou 7-ACA (noyau céphème), qui distingue les céphalosporines des pénicillines. Suivant les substituants en R3 et R4, on distingue les céphalosporines, les céphamycines et les oxacéphèmes (**Fig. 2**). La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables.

### II.2.3.Monobactames : <sup>[21]</sup>

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle  $\beta$ -lactame (**Fig. 2**). Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit.

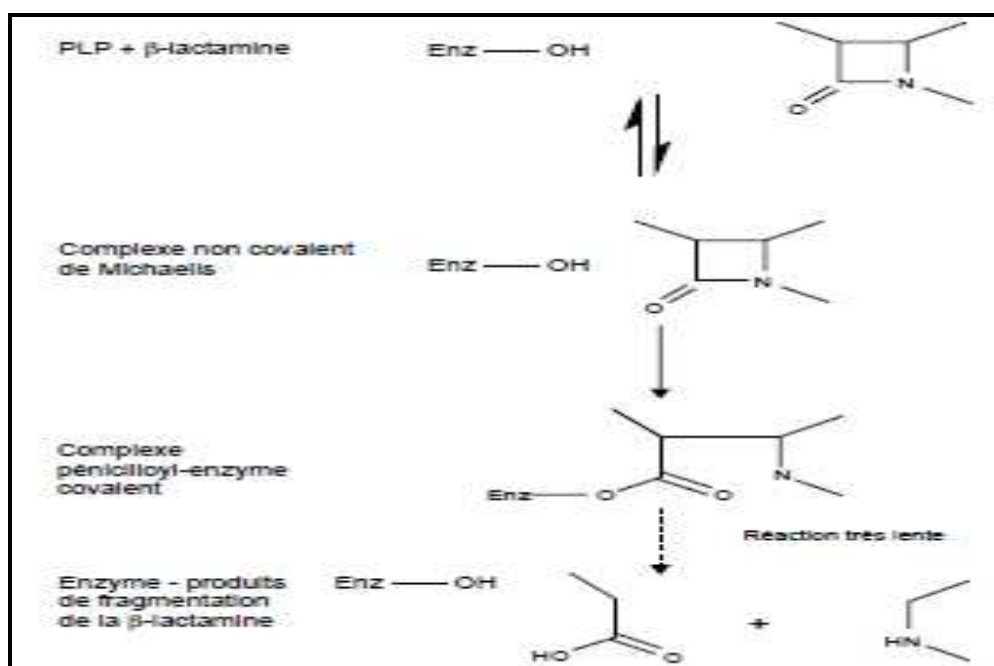


**Figure 2 :** Classification des  $\beta$ -lactamines : dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et monobactames. <sup>[21]</sup>

### II.3. Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines :

Les  $\beta$ -lactamines sont des molécules cycliques qui interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane. Elles présentent une analogie structurale entre le noyau  $\beta$ -lactame et le dipeptide terminal D-alanine-D-alanine du pentapeptide constitutif du peptidoglycane. Leur reconnaissance par les transpeptidases et les carboxypeptidases (PLP) aboutit à la fixation du cycle  $\beta$ -lactame sur le site actif de ces enzymes cibles, qui comporte en général une sérine. Cette fixation entraîne une ouverture du cycle  $\beta$ -lactame par rupture de la

liaison amide et une acylation du site actif sérine avec formation d'un complexe pénicilloyl-enzyme covalent qui aboutit à l'inactivation du site actif de l'enzyme, provoquant une inhibition de la synthèse du peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne (**Fig. 3**).<sup>[23]</sup> La fixation est irréversible et l'antibiotique se comporte comme un substrat suicide. Les  $\beta$ -lactamines n'ont en revanche pas d'action sur la transglycosylation.<sup>[21]</sup>



**Figure 3** : Acylation du site actif sérine d'une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) par une  $\beta$ -lactamine.<sup>[21]</sup>

Pour développer au mieux leur action antibiotique, les  $\beta$ -lactamines doivent répondre à plusieurs conditions :<sup>[21]</sup>

- Pouvoir pénétrer à travers la membrane externe et le peptidoglycane ;
- Traverser l'espace périplasmique sans être inactivées par les  $\beta$ -lactamases ou rejetées à l'extérieur par des systèmes de pompes d'efflux ;
- Se lier avec une affinité suffisante aux PLP présentes sur la membrane cytoplasmique ; cette liaison inhibant les transpeptidases, il en résulte un arrêt de la synthèse pariétale ;
- Provoquer l'intervention du système autolytique (muréine-hydrolases), responsable de la lyse ultérieure de la bactérie, d'où une action bactéricide.

Le niveau de réalisation de ces différentes conditions permet de différencier en termes d'activité les diverses  $\beta$ -lactamines entre elles.

## **II.4. Mécanismes de la résistance bactérienne acquise aux $\beta$ -lactamines :**

### **II.4.1 .Résistance non enzymatique :**

#### **a- Imperméabilité de la membrane externe :**

Chez les bactéries à Gram négatif, la pénétration des  $\beta$ -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. La sensibilité aux  $\beta$ -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de

résistances acquises aux  $\beta$ -lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente.<sup>[24]</sup>

La résistance acquise est d'autant plus forte vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines que la molécule est plus volumineuse, plus hydrophobe et chargée négativement. Les mutants de porines ont été produits in vitro au laboratoire chez les bactéries à Gram négatif et décrits en pratique clinique chez diverses espèces d'entérobactéries et *P. aeruginosa*. Chez *Enterobacter aerogenes*, ce mécanisme de résistance est rencontré, associé ou non à un mécanisme enzymatique, chez environ 6 % des isolats cliniques et jusqu'à 40 % des souches présentant une résistance élevée aux céphalosporines.<sup>[25]</sup>

Ainsi, la diminution de la synthèse des porines peut jouer un rôle dans l'apparition de la résistance aux  $\beta$ -lactamines en cours de traitement chez les bactéries à Gram négatif.<sup>[24]</sup> Ce mode de résistance n'affecte pas les bactéries à Gram positif du fait de l'absence de membrane externe.

#### **b- Systèmes d'efflux :**

L'hyperexpression des systèmes d'efflux représente un mécanisme de résistance aux antibiotiques très répandu et a été décrite chez de nombreuses espèces bactériennes à Gram positif ou à Gram négatif d'intérêt médical comme les staphylocoques, les streptocoques, les entérobactéries ou *P. aeruginosa*. Cependant, les résistances acquises aux  $\beta$ -lactamines liées à l'hyperexpression de ces systèmes d'efflux n'ont été décrites que chez des bactéries à Gram négatif comme *E. coli*, *P. aeruginosa* ou *N. gonorrhoeae* (**Tab. II**).<sup>[26, 27, 28]</sup> Cette hyperexpression fait souvent suite à des mutations survenant dans les gènes

répresseurs qui régulent la transcription de tous ces systèmes transporteurs. [26, 27, 28] Chez les entérobactéries comme *E. coli*, l'hyperproduction de l'activateur transcriptionnel MarA (Multiple antibiotic resistance), qui résulte de la mutation du répresseur marA, est capable à la fois de diminuer la porine OmpF en diminuant la traduction du gène OmpF et de stimuler l'expression de nombreux gènes dont certains codent pour des pompes d'efflux actif comme le système AcrAB. [27] Ces systèmes d'efflux sont surtout actifs sur les  $\beta$ -lactamines les plus hydrophobes qui ne passent pas la barrière de la membrane cytoplasmique et s'accumulent dans l'espace périplasmique. [29, 27, 30] Ils agissent en synergie avec la barrière d'imperméabilité bactérienne que représentent la membrane externe et les  $\beta$ -lactamases constitutives. Leur hyperexpression chez des espèces naturellement peu perméables et possédant une céphalosporinase constitutive Amp-C comme *P. aeruginosa* peut conférer des résistances croisées cliniquement significatives à des antibiotiques appartenant à différentes familles comme les  $\beta$ -lactamines, les quinolones, le chloramphénicol ou les tétracyclines. [26]

**Tableau II : Exemples de systèmes d'efflux de bactéries à Gram négatif incluant les  $\beta$ -lactamines dans leur spectre de substrat. <sup>[21]</sup>**

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

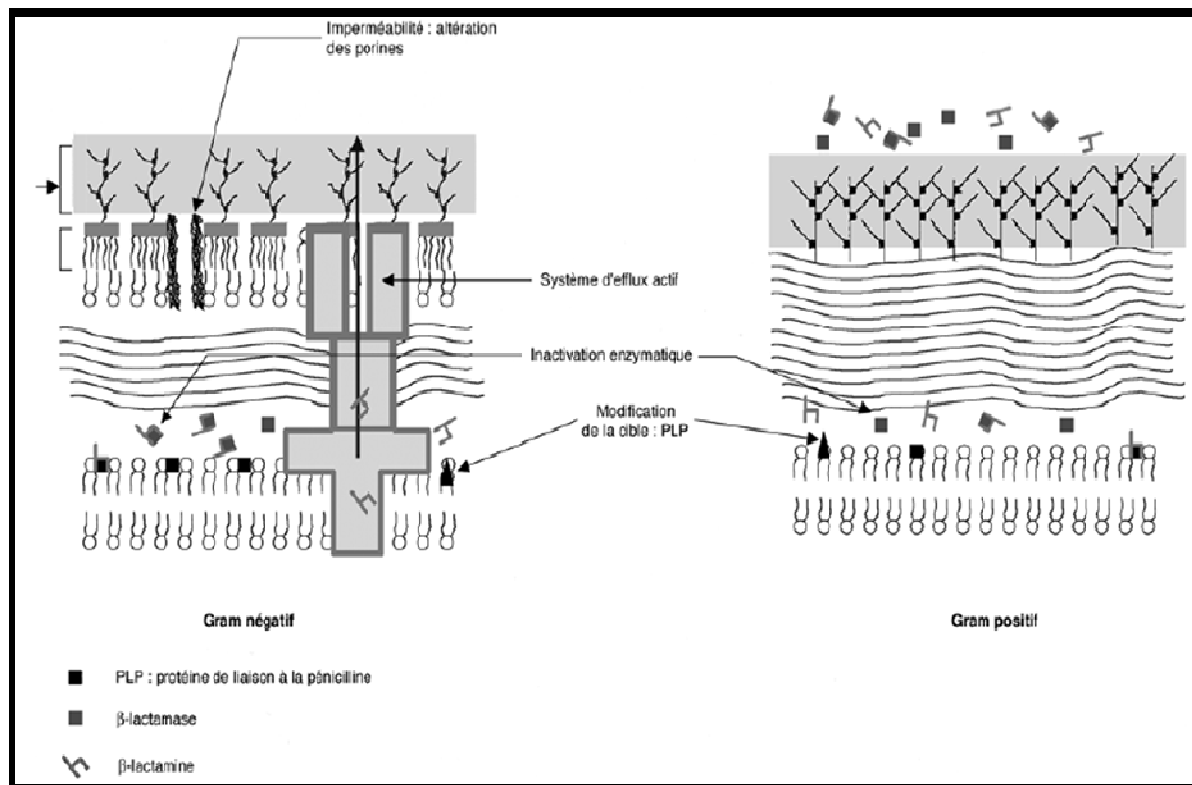
a : L'hyperexpression des systèmes d'efflux confère une augmentation de deux à huit dilutions des CMI pour les antibiotiques substrats.

b: Le méropénème est touché, contrairement à l'imipénème.

c : Parmi les  $\beta$ -lactamines anti-*Pseudomonas*, la céfépime et la ceftiprome sont les plus touchées.

### **c- Modification des protéines liant la pénicilline :**

C'est un mécanisme de résistance acquis est retrouvé chez certaines bactéries à Gram négatif, comme *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* ou *H. influenzae*. <sup>[31, 32, 33]</sup> Ces résistances font suite à des mutations dans les gènes chromosomiques qui codent pour les PLP normales ou à l'acquisition de gènes étrangers codant pour des PLP ayant peu d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines. On peut ainsi aboutir à des altérations quantitatives et qualitatives des PLP, avec diminution d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines, ou à une substitution dans leurs fonctions des PLP cibles par une autre PLP moins affine. <sup>[34, 35, 36, 37, 38, 39]</sup>



**Figure 4** : Représentation schématique des principaux mécanismes de résistance aux β-lactamines. <sup>[21]</sup>

#### II.4.2. Résistance enzymatique : <sup>[21]</sup>

Les β-lactamases sont un groupe hétérogène d'enzymes d'origine bactérienne capables d'inactiver les β-lactamines par ouverture du cycle β-lactame. Elles constituent de loin le mécanisme le plus répandu de résistance des bactéries aux β-lactamines et ont été à l'origine des premières résistances acquises dès l'apparition des antibiotiques au début des années 1940 : la première résistance par pénicillinase plasmidique à la pénicilline G est décrite chez *S. aureus* dès 1944. En 1955, la résistance naturelle de nombreuses espèces de bacilles à Gram négatif par production d'une céphalosporinase

inductible est mise en évidence. En 1965, les premières  $\beta$ -lactamases plasmidiques de type TEM sont décrites chez les entérobactéries et, en 1974, le transfert de ces  $\beta$ -lactamases à des espèces bactériennes différentes par transposition est mise en évidence, expliquant leur diffusion à *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* ou *Vibrio cholerae*. L'extension de la résistance par production de  $\beta$ -lactamase devait par la suite s'accélérer. Ainsi, dès 1980, la prescription des céphalosporines résistantes aux pénicillinases à large spectre a été suivie de la sélection en cours de traitement de variants hyperproducteurs de céphalosporinase chez certaines espèces (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*...). Plus récemment, des pénicillinases ont été individualisées dans des espèces jusque-là épargnées : *N. meningitidis*, *Haemophilus ducreyi*, *H. parainfluenzae*, *E. faecalis*, *E. faecium* ou *Pasteurella multocida*. La découverte de la première souche de *Klebsiella* résistante aux C3G par production de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi est suivie par une rapide diversification et une large diffusion de ce type d'enzymes chez les entérobactéries. Les premières souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* ayant acquis un plasmide codant pour une  $\beta$ -lactamase de classe C sont décrites en 1988. À la même époque, au Japon, une souche de *P. aeruginosa* résistante à l'imipénème par acquisition d'une carbapénèmase plasmidique est caractérisée. Au début des années 1990, des mutants dérivés de  $\beta$ -lactamases à large spectre de type TEM et présentant une résistance aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase comme l'acide clavulanique sont à leur tour décrits chez *E. coli*, puis chez d'autres espèces d'entérobactéries.

### **II.4.3. Approche phénotypique des entérobactéries en termes de résistance naturelle aux bêtalactamines :**

Historiquement, quatre groupes d'entérobactéries avaient été définis sur la base du phénotype de résistance naturelle aux  $\beta$ -lactamines. Depuis, la création de nouveaux groupes a été proposée suite à l'évolution de la taxonomie et des connaissances dans le domaine des  $\beta$ -lactamases. Les différences entre certains groupes ne sont pas toujours identifiables sur la base de l'antibiogramme. Cependant elles ont des conséquences sur l'analyse des phénotypes de résistance acquise. Ainsi, 7 groupes d'entérobactéries peuvent être différenciés. <sup>[39]</sup>

**Tableau III : Classification des entérobactéries selon le phénotype de résistance naturelle. (d'après <sup>[39,40]</sup>)**

Groupes	Espèces	Phénotype de résistance naturelle
<b>Groupe 0</b>	<i>P. mirabilis, Salmonella sp.</i>	Sensibles à toutes les $\beta$ -lactamines testées
<b>Groupe 1</b>	<i>E. coli, P. mirabilis, Shigella sp., Salmonella sp.</i>	Céphalosporinase constitutive de très bas niveau
<b>Groupe 2</b>	<i>K. pneumoniae, K. oxytoca, C. koseri, Raoultella planticola, R. ornithinolytica, R. terrigena, C. amalonaticus, L. malonatica, E. hermannii, C. gillenii</i>	Pénicillinase de bas niveau (Aminopénicillines et Carboxypénicillines)
<b>Groupe 3</b>	<i>C. braakii, C. youngae, C. freundii, E. cloacae, E. aerogenes, E. asburiae, Proteus indole +, S. marcescens, M. morgani, E. agglomerans, E. hafniae, P. agglomerans, P. rettgeri, P. stuartii, P. vulgaris, Hafnia alvei.</i>	Céphalosporinase inductible (Aminopénicillines seules ou associées aux inhibiteurs, C1G)
<b>Groupe 4</b>	<i>Y. enterocolitica, S. fonticola</i>	Céphalosporinase inductible et enzyme sensible aux inhibiteurs
<b>Groupe 5</b>	<i>P. vulgaris, P. penneri</i>	Céfuroximase inductible
<b>Groupe 6</b>	<i>K. ascorbata, K. cryocrescens, K. georgiana, R. aquatilis, E. persicina, C. amalonaticus, C. farmeri, C. sedlakii</i>	BLSE de bas niveau/BLSE inductible (Aminopénicillines, Carboxypénicillines, C1G, Céfuroxime)

### III- Les Bêta-Lactamases à Spectre Élargi (BLSE):

#### III. 1. Définition :

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) sont une grande famille très hétérogène d'enzymes bactériennes découverte dans les années 80 en France, puis en Allemagne. Elles sont induites soit par des plasmides, soit par la mutation du génome naturel chez *Klebsiella spp*, codant pour une bêta-lactamase SHV. Les deux mécanismes confèrent aux bactéries touchées la capacité d'hydrolyser une grande variété de pénicillines et de céphalosporines. La majorité des BLSE sont le résultat de mutations génétiques de bêta-lactamases naturelles, en particulier de TEM-1, TEM-2 et SHV-1. Elles sont très actives contre les pénicillines et moyennement actives contre les C1G. Les mutations génétiques à l'origine des BLSE élargissent le spectre de ces enzymes et touchent également les C3G (ceftazidime et céfotaxime) et les monobactames (aztréonam). Les bactéries produisant une BLSE n'hydrolysent pas les céphamycines (céfoxitine) ni les carbapénèmes (imipénème) et elles sont inhibées par l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam, les inhibiteurs classiques de bêta-lactamases. La présence de BLSE est fréquemment associée à la résistance aux fluoroquinolones.<sup>[41]</sup>

#### III. 2. Classification :

Parmi les nombreuses classifications proposées, les plus utilisées sont : la classification structurale d'après Ambler et la classification fonctionnelle par groupes en fonction des spectres de substrat d'après Bush-Jacoby-Meideros.

[28,42]

### III.2.1. La classification d'Ambler :

Cette classification reflète la structure fondamentale de l'enzyme, elle est basée sur la séquence peptidique du site enzymatique ou sur la séquence totale du gène codant la  $\beta$ -lactamase. Elle propose quatre classes : classes A, B, C (sérine enzymes) et D (métalloenzymes).<sup>[28]</sup>

### III.2.2. La classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros :

Cette classification est plus complète et plus récente, elle reflète le spectre d'activité de l'enzyme et répartit les  $\beta$ -lactamases en quatre groupes en fonction de leur profil de substrat (pénicilline, oxacilline, carbénicilline, céphaloridine, C3G et imipénème) et d'inhibition (acide clavulanique et EDTA).<sup>[42]</sup>

La connaissance de la séquence en acides aminés autour du site actif pour de nombreuses enzymes permet d'effectuer une corrélation avec la classification moléculaire d'Ambler (**Tab. IV**). En termes de nomenclature, la description des  $\beta$ -lactamases par grand type d'activité enzymatique est la plus utilisée en pratique médicale courante : pénicillinases,  $\beta$ -lactamases à large spectre,  $\beta$ -lactamases à spectre élargi,  $\beta$ -lactamases TRI, carbapénémases, céphalosporinases ou  $\beta$ -lactamases AmpC (**Tab. IV**). Ces  $\beta$ -lactamases, qui représentent un mécanisme fréquent de résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines, sont naturellement observées chez certaines espèces bactériennes aérobies ou anaérobies d'intérêt médical.<sup>[21]</sup>

**Tableau IV : Correspondance entre les classifications moléculaire et fonctionnelle des  $\beta$ -lactamases et résistances aux antibiotiques.** <sup>[21]</sup>

Classification moléculaire (Ambler)	Classification fonctionnelle (Bush)	Type de $\beta$ -lactamase	Bactéries impliquées	Inhibition par l'acide clavulanique	$\beta$ -lactamines hydrolysées	$\beta$ -lactamines stables
<b>Sérine <math>\beta</math>-lactamases</b>	2a	Pénicillinases	Bactéries à Gram positif (dont staphylocoques et entérocoques)	++	Pénicillines sauf pénicillines M	Pénicillines M, C1G, carbapénèmes
<b>Classe A</b>	2b	$\beta$ -lactamases à large spectre	Bactéries à Gram négatif	++	Amino-, carboxy- et uréido-pénicillines, C1G, C2G	Céphamycines, C3G, moxalactam, carbapénèmes, aztréonam
	2be	$\beta$ -lactamases à spectre élargi aux C3G et à l'aztréonam	Entérobactéries Pseudomonas aeruginosa	++	Idem 2b + C3G et aztréonam	Céphamycines, moxalactam, carbapénèmes
	2br	$\beta$ -lactamases à large spectre résistant à l'acide clavulanique	Entérobactéries	-	Idem 2b + associations aux $\beta$ L	Idem 2b
	2c	Carbénicillinases	Bactéries à Gram négatif	+	Idem 2b	Idem 2b
	2e	Céphalosporinases inhibées par l'acide clavulanique	Bactéries à Gram négatif (surtout entérobactéries)	++	Amino-, carboxy- et uréidopénicilline, C1G, C2G, certaines C3G	Ceftazidime, céphamycines, aztréonam, carbapénèmes
	2f	Carbapénémases à site actif sérine et inhibées par l'acide clavulanique	Entérobactéries	+	Idem 2b + aztréonam, carbapénèmes et certaines C3G	Certaines C3G
<b>Classe C</b>	1	Enzymes AmpC chromosomiques et plasmidiques	Bactéries à Gram négatif	-	Toutes les $\beta$ -lactamines I sauf les carbapénèmes	Carbapénèmes
<b>Classe D</b>	2d	Oxacillinases	Bacilles à Gram négatif	+/-	Idem 2b (+ parfois C3G, aztréonam ou carbapénèmes)	Variable
<b>Pas de classe attribuée</b>	4	Enzymes indéterminées n'entrant pas dans une autre catégorie	Espèces variées	-	Variable	Variable
<b>Zinc <math>\beta</math>-lactamases</b>	3	Métallo- $\beta$ -lactamases	Bactéries à Gram négatif	-	Large profil de substrats dont les carbapénèmes	Variable
<b>Classe B</b>			Bacillus groupe cereus			(surtout aztréonam chez les enzymes de type IMP ou VIM)

### III.2.3. Les Anciennes BLSE : BLSE dérivées des pénicillinases

#### a. BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient) :

De nombreux dérivés de TEM-1/2 (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *P. aeruginosa*.<sup>[40,41]</sup> En Europe, les BLSE de type TEM les plus fréquentes sont TEM-24 chez *Enterobacter aerogenes*, TEM-3 et TEM-4 chez *K. pneumoniae*, et TEM-52 chez *Salmonella enterica* et *E. coli*.<sup>[43]</sup> Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau de 4 «hot spots» de la protéine (positions 104,164, 238 et 240).<sup>[44]</sup> À noter que certains dérivés de TEM (environ 30) ne sont pas des BLSE mais présentent une diminution de sensibilité aux IβL, ce sont les TRI (pour TEM Résistantes aux Inhibiteurs).<sup>[40]</sup>

#### b. BLSE de type SHV (Sulphydryl variable) :

La majorité des dérivés de SHV-1 (> 60) ont un phénotype de BLSE, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe.<sup>[43]</sup> Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K.pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp.*<sup>[40,41]</sup> Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240).<sup>[44]</sup>

Enfin, le gène codant pour SHV-12 a été décrit en association avec le déterminant plasmidique de résistance aux quinolones, QnrB.<sup>[43]</sup>

### III.2.4. Les Nouvelles BLSE : BLSE non dérivées des pénicillinases

#### a. BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Munich) :

Ces enzymes «émérgentes» pourraient représenter très prochainement les BLSE les plus fréquentes au sein des entérobactéries au niveau mondial après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90. <sup>[40,41, 45,46]</sup> Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximases. <sup>[45]</sup> En effet, les bactéries productrices de CTX-M sont résistantes au céfotaxime (CMI > 64 µg/mL) et plus ou moins sensibles à la ceftazidime (CMI de 2 à 8 µg/mL), tandis que les CMI de l'aztréonam sont variables. <sup>[41]</sup> Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des β-lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité). <sup>[45]</sup> À ce jour, de nombreux variants de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45. <sup>[47]</sup>

Les enzymes Toho-1/2, décrites au Japon, sont très proches structurellement des CTX-M et sont donc classées parmi celles-ci. <sup>[45]</sup> À noter que certains variants (ex. CTX-M-15, CTX-M-32) avec une activité de ceftazidimase élevée (CMI > 256 µg/mL) ont été décrit (mutation ponctuelle en position 240). <sup>[45,47]</sup>

Les progéniteurs des CTX-M ont été identifiés sur le chromosome de *Kluyvera spp.* qui sont des entérobactéries non pathogènes environnementales. En effet, les progéniteurs des gènes codant pour les CTX-M des groupes 1 et 2 et pour celles des groupes 8 et 9 sont respectivement *K. ascorbata* et *K. georgiana*, tandis que les sources des CTX-M des groupes 25 et 45 restent inconnues. <sup>[48]</sup>

Depuis leurs progéniteurs, les gènes ont été capturés grâce à des éléments génétiques mobiles type séquence d'insertion (ex. *ISEcp1*, *ISCR1*) ou à des phages, et transférés sur des plasmides conjugatifs qui ont ensuite diffusé parmi les entérobactéries pathogènes. <sup>[44, 47, 48]</sup> Les souches productrices de CTX-M ont été initialement rapportées de façon sporadique à la fin des années 80 au Japon (FEC-1), en Europe (MEN-1, CTX-M-1) et en Argentine (CTX-M-2). <sup>[45]</sup>

Dans le début des années 90, une diffusion massive des souches productrices de CTX-M (*S. enterica*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Shigella sonnei*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *E. aerogenes*) a été décrite en Argentine et dans les pays voisins, impliquant pour la plupart les CTX-M du groupe 2. <sup>[45,47]</sup> En 15 ans, la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries a explosé de façon extrêmement rapide, d'où le terme de «pandémie CTX-M». <sup>[48]</sup> Les études épidémiologiques récentes rapportent que la situation est endémique dans la plupart des pays d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Sud avec de forts taux de prévalence de CTX-M parmi les souches productrices de BLSE : *E. coli* (de 30 à 90%) et de *K. pneumoniae* (de 10 à 60 %). <sup>[46,47]</sup> À noter que quelques CTX-M sont retrouvées spécifiquement dans certains pays (comme CTX-M-9 et CTX-M-14 en Espagne, CTX-M-1 en Italie ou CTX-M-2 en Amérique du Sud, au Japon) tandis que CTX-M-15 est mondialement distribuée. <sup>[48]</sup> En Espagne, la prévalence des CTX-M parmi les souches d'*E. Coli* et de *K. pneumoniae* productrices de BLSE était respectivement de 52,3 % et 12,5 % tandis qu'en Italie, les taux respectifs étaient de 54,8 % et 12,3 %. <sup>[47]</sup> La large diffusion des CTX-M a changé considérablement l'épidémiologie des BLSE à l'hôpital mais aussi celle dans la communauté avec l'émergence de souches productrices de BLSE,

principalement des souches d'*E. Coli* productrices de CTX-M (notamment CTX-M-15).<sup>[44,47]</sup> De plus, le portage digestif de souches productrices de BLSE est devenu non négligeable avec un réservoir de BLSE animal important.<sup>[47]</sup> Dans une étude récente espagnole, les taux de portage de souches d'*E. Coli* productrices de BLSE étaient de 11,8 % chez les patients hospitalisés et de 5,5 % chez les patients de ville avec 42 % et 69 % de CTX-M, respectivement.<sup>[49]</sup> Comme pour les plasmides TEM/SHV, les plasmides CTX-M portent souvent d'autres gènes de résistance (notamment aux aminosides, aux tétracyclines, aux sulfamides et au triméthoprim) d'où la notion de co-résistance, co-expression et co-sélection.<sup>[48]</sup> De plus, la plupart des souches productrices de CTX-M sont résistantes aux fluoroquinolones. Cette résistance, principalement due aux modifications des topoisomérases, pourrait aussi être expliquée par la diffusion de déterminants plasmidiques associés aux CTX-M, comme Qnr et AAC (6')-Ib-cr, mais l'impact clinique reste à évaluer.<sup>[48]</sup>

Enfin, à noter que les BLSE de type CTX-M peuvent être associées à d'autres  $\beta$ -lactamases, comme CTX-M-15 avec l'oxacillinase OXA-1 ou des céphalosporinases plasmidiques.<sup>[43,46]</sup>

#### **b. BLSE de type PER (Pseudomonas Extended Resistance) :**

L'enzyme PER-1, initialement découverte en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie, est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* mais a aussi été détectée chez *S. enterica* sérovar Typhimurium, *Providencia spp.* *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis*.<sup>[50]</sup> En Turquie, une étude récente a montré que 32 % des souches résistantes à la ceftazidime de *P. aeruginosa* et 55% de celles de *A. baumannii* étaient productrices de PER-1.<sup>[51]</sup> Une seconde enzyme, PER-2

(86 % d'identité avec PER-1), a été détectée en 1996 chez *S. enterica* sérovar Typhimurium en Argentine, et depuis chez d'autres entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *A. baumannii*.<sup>[50,51]</sup> À noter que tandis que PER-1 est surtout présente en Turquie et en Corée du Sud (quelques cas décrits en Italie, France et Belgique), PER-2 n'a été détectée qu'en Amérique du Sud. Enfin, une souche de *P. aeruginosa* produisant à la fois PER-1 et la carbapénèmase VIM-2 a été détectée en Italie.<sup>[50]</sup>

c. **BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase):**

L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée en 1996 dans une souche d'*E. Coli* isolée chez un patient vietnamien puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande.<sup>[50,51]</sup> Plusieurs études épidémiologiques en Thaïlande et au Vietnam ont montré que respectivement jusqu'à 40 % et 80 % des souches d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* résistantes à la ceftazidime produisaient VEB-1.<sup>[51]</sup> À ce jour, 4 dérivés de VEB-1 ont aussi été décrits (VEB-2 à VEB-5). VEB-1 a été détectée chez *P. aeruginosa* au Koweït, en Chine, en Inde et au Bangladesh, chez *A. baumannii* en France, en Belgique et en Argentine, chez *P. stuartii* en Algérie, chez *Enterobacter cloacae* et *Achromobacter xylosoxidans* en France, et chez *E. coli* au Canada.<sup>[51]</sup> Plusieurs épidémies nationales ont été rapportées : *A. baumannii* VEB-1 en France et en Belgique ; *P. mirabilis* VEB-1 en Corée du Sud ; et *E. cloacae* en Chine. Enfin, à noter que le gène codant pour VEB-1 est souvent localisé au sein d'un intégron et peut donc être associé à d'autres gènes de résistance comme *qnrA*, déterminant plasmidique de la résistance aux quinolones.<sup>[51]</sup>

**d. BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase) :**

Les BLSE de type GES sont de plus en plus rapportées chez les BGN, notamment *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. GES-1 a été initialement décrite chez une souche de *K. pneumoniae* isolée en 1998 en France puis en Argentine, au Brésil, au Portugal et aux Pays-Bas.<sup>[51]</sup> À ce jour, 9 variants différents ont été décrits dont GES-2 en Afrique du Sud, GES-5 à GES-8 (GES-7 = IBC-1 ; GES-8 = IBC-2) en Grèce, GES-3 et GES-4 au Japon, GES-5 en Corée du Sud, en Chine et au Brésil, et GES-9 en France.<sup>[51]</sup> À noter que, contrairement à la plupart des BLSE, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et surtout GES-2 hydrolyse les carbapénèmes en étant moins sensible aux IβL. Par une unique mutation, GES-2 est le premier exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes ; depuis, 4 autres dérivés ont été décrits (GES-4 à GES-6, GES-8).<sup>[51]</sup> De façon inquiétante, des souches de *P. aeruginosa* produisant GES-1 et la carbapénémase VIM-11 et d'*E. Coli* produisant GES-7 et la carbapénémase VIM-2 ont été décrites respectivement en Argentine et en Grèce. Enfin, plusieurs épidémies de BGN producteurs de BLSE de type GES ont été rapportées : *K. pneumoniae* en Corée du Sud, au Portugal et en Grèce, *S. marcescens* aux Pays-Bas, et *P. aeruginosa* en Afrique du Sud.<sup>[51]</sup>

**e. Autres BLSE de classe A :**

• **L'enzyme SFO-1** (*Serratia fonticola*) n'a été détectée qu'une seule fois dans une souche de *E. cloacae* isolée au Japon en 1988.<sup>[51]</sup>

• **L'enzyme BES-1** (Brazilian Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase) n'a été isolée qu'une seule fois à partir d'une souche de *S. marcescens* au Brésil en 1996. <sup>[51]</sup>

• **L'enzyme BEL-1** (Belgium Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase) a été identifiée dans une souche de *P. aeruginosa* en Belgique en 2004. De récents travaux suggèrent que le gène codant pour BEL-1 pourrait disséminer dans les souches de *P. aeruginosa* en Belgique. <sup>[51]</sup>

• **L'enzyme TLA-1** (Tlahuicas-tribu indienne) a été décrite dans une souche d'*E. coli* isolée au Mexique en 1993. Depuis, plusieurs cas de bactériémies et d'infections urinaires nosocomiales dues à une souche de *K. pneumoniae* produisant à la fois SHV-5 et TLA-1 ont été rapportés au Mexique. À noter que TLA-1 n'a été identifié qu'au Mexique. <sup>[51]</sup>

• **L'enzyme TLA-2** ; Le gène codant l'enzyme TLA-2 est porté par un plasmide de 47 kb (pRSB101) isolé à partir d'eaux usées de traitement de plantes en Allemagne en 2002. Cependant, l'espèce hébergeant ce déterminant n'a pas pu être identifiée et aucune souche TLA-2-positif n'a été décrite à ce jour. <sup>[51]</sup>

#### f. **BLSE de type OXA (Oxacillinase) :**

Bien que les BLSE appartiennent souvent à la classe A, plusieurs oxacillinases (Classe D et classe 2d) ont des propriétés de BLSE. <sup>[40, 41, 52]</sup> Les  $\beta$ -lactamases de type OXA confèrent la résistance à l'ampicilline et à la céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline). De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique. <sup>[41]</sup>

La plupart des  $\beta$ -lactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C3G/C4G mais l'évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers un élargissement du spectre a dû avoir lieu comme pour les dérivés de TEM/SHV.<sup>[51]</sup> Les  $\beta$ -lactamases de type OXA représentent une famille phylogénétiquement très hétérogène et les BLSE de type OXA dérivent de OXA-10, de OXA-13, de OXA-2 ou sont non reliées (OXA-18, -45).<sup>[41,51]</sup> Bien que la plupart des BLSE dérivées de OXA-10 confèrent une résistance plus élevée au céfotaxime, les activités enzymatiques des BLSE de type OXA sont très variables. Les BLSE de type OXA sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont aussi été détectées chez d'autres BGN dont les entérobactéries.<sup>[41,51]</sup> Découvertes initialement chez *P. aeruginosa* en Turquie, elles ont ensuite été décrites en France, à Taïwan, en Corée et aux Etats-Unis. Malheureusement, très peu d'études épidémiologiques ont été menées pour évaluer la dissémination des BLSE de type OXA.<sup>[51]</sup>

### III.3. Épidémiologie mondiale des BLSE :

#### III.3.1. Prélèvements à visée diagnostique :

Les données présentées sur la **Fig. 5** montrent une répartition inhomogène des EBLSE -provenant de prélèvements à visée diagnostique- à l'échelle mondiale, avec par ordre décroissant de prévalence, l'Amérique du Sud, l'Asie/région pacifique, l'Europe et les États-Unis.<sup>[53]</sup> Il n'existe pas de données globales pour le continent africain, même si des études régionales laissent présager d'une forte prévalence.<sup>[54]</sup> Ces chiffres sont de plus à moduler au sein même de ces régions. Ainsi, en Europe, il existe clairement une plus forte prévalence des EBLSE dans les pays du Sud avec un gradient croissant Nord-

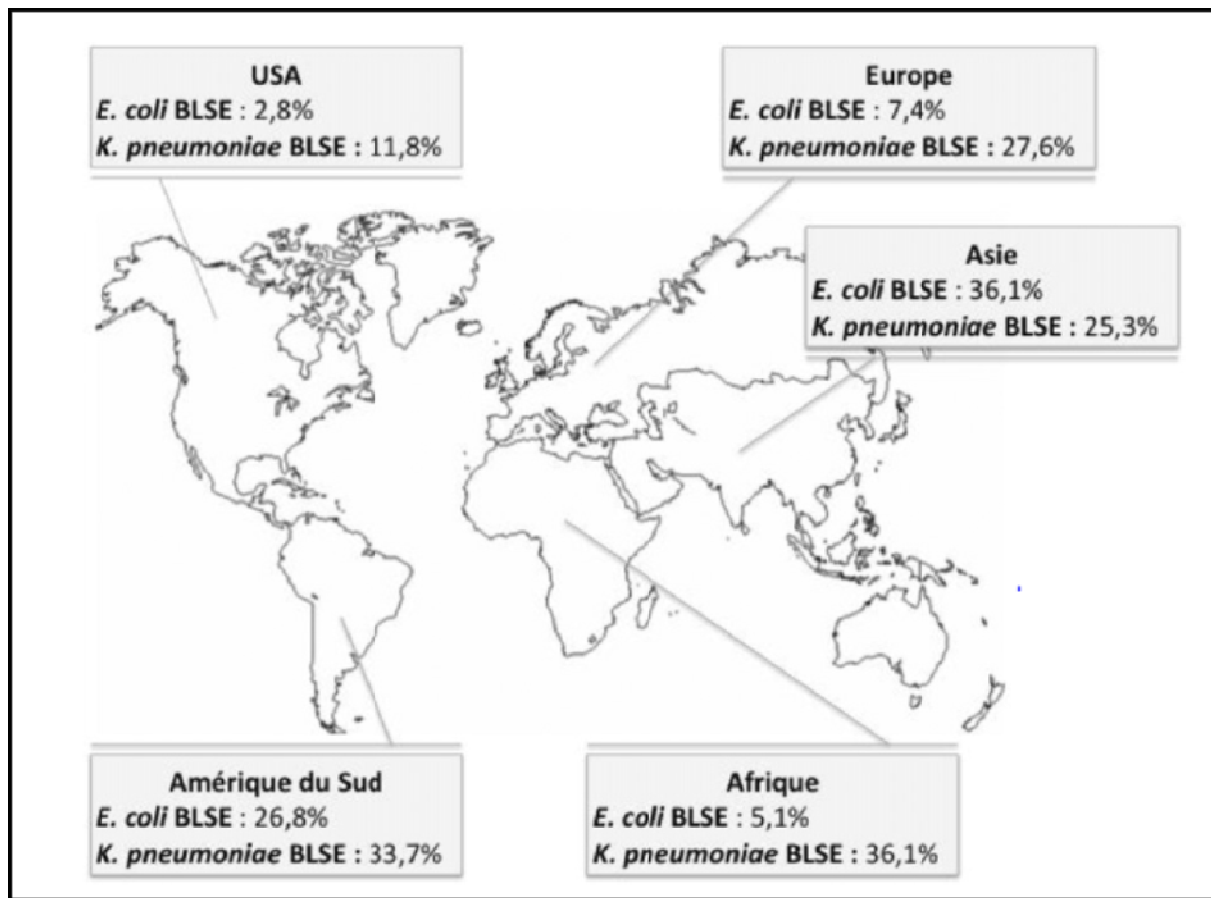
Sud.<sup>[55]</sup> Outre ces aspects descriptifs de prévalence, les réseaux internationaux de surveillance confirment l'isolement constamment croissant de souches d'EBLSE dans les prélèvements au cours de la dernière décennie.<sup>[55]</sup>

### III.3.2. Colonisation :

La prévalence de la colonisation ou portage des EBLSE chez des sujets sains non infectés est plus difficile à évaluer que celles de ces mêmes bactéries responsables d'infections, en l'absence d'études sur de larges cohortes internationales. La prévalence des porteurs sains en communauté varie entre les régions. En Afrique, une étude réalisée sur 20 enfants d'un village rural au Sénégal retrouvait, en se basant sur les coprocultures, une prévalence de 10 % d'*E. Coli* BLSE.<sup>[56]</sup> De même, en Amérique latine, les études réalisées font état d'une prévalence de 8 %.<sup>[57]</sup> En revanche, en Asie, la situation est plus contrastée avec une prévalence qui varie de 6,4 % au Japon<sup>[58]</sup> à près de 30 % en Thaïlande.<sup>[59]</sup> Au Moyen-Orient, cette prévalence est de l'ordre de 13 % pour les études les plus récentes.<sup>[60]</sup> Enfin, en Europe, la prévalence du portage d'EBLSE communautaires varie de 3,6 à 4,2 %.<sup>[61]</sup> Ces chiffres donnent une idée de la prévalence du portage d'EBLSE au sein de la population communautaire.

Comme pour les prélèvements à visée diagnostique, il est intéressant de noter qu'au sein d'une même population, on assiste à une augmentation significative de la prévalence avec le temps. Ainsi la population guyanaise étudiée en 2001 retrouvait une prévalence du portage d'EBLSE de 3,2 % contre 8 % en 2006.<sup>[57]</sup> Le portage des EBLSE chez les patients ambulatoires ou hospitalisés a été davantage étudié. En Afrique, la prévalence du portage

d'EBLSE varie de 21,2 % à l'admission dans un hôpital pédiatrique<sup>[62]</sup> à 100 % chez des enfants vivant dans un orphelinat au Mali.<sup>[63]</sup> En Asie, elle est de 20 % (*K.pneumoniae* CTX-M-15) en Inde<sup>[64]</sup> et s'élève à 43,5 % à l'admission dans un hôpital pédiatrique de Hong-Kong.<sup>[65]</sup> Au Moyen-Orient, la prévalence est variable selon le pays. Elle est de 26,1 % en Arabie Saoudite.<sup>[60]</sup> Une seule étude américaine s'est intéressée au portage d'EBLSE chez des patients de réanimation, en réalisant un écouvillonnage rectal lors de leur admission : la prévalence était de 2 %.<sup>[66]</sup> Enfin en Europe, la prévalence semble plus faible, de 5 à 6 %.<sup>[67]</sup> Cependant si on observe des populations plus ciblées comme, par exemple, les patients neutropéniques en hématologie<sup>[68]</sup>, les patients atteints de diarrhée<sup>[69]</sup> ou les patients institutionnalisés<sup>[70]</sup>, elle peut atteindre 40,5 %. On remarquera aussi dans ces études que la prévalence est également élevée parmi les patients ambulatoires, même si elle est plus faible que chez les patients hospitalisés.<sup>[71]</sup> Une étude s'est intéressée à la prévalence du portage sur une cohorte de patients entre l'admission et la sortie de l'hôpital : de 21,2 % à l'admission, elle passait à 57,1 % à leur sortie.<sup>[62]</sup> Enfin, comme pour le portage communautaire, on assiste à une augmentation rapide de la prévalence des porteurs d'EBLSE parmi les patients ambulatoires ou hospitalisés. Ainsi, Castillo et al. ont rapporté une augmentation de cette prévalence de 2,3 à 7,2 % entre 2002 et 2004.<sup>[67]</sup>



**Figure 5** : Prévalence des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans le monde. <sup>[72]</sup>

### III.4. Facteurs de risque d'acquisition d'une bactérie BLSE :

En milieu hospitalier, les facteurs de risque d'infection nosocomiale ont largement été étudiés et sont récapitulés dans le **Tab.V**. Pour le milieu communautaire, les études s'intéressant aux facteurs de risque d'infection et de colonisation sont moins nombreuses et présentent les mêmes écueils. Les facteurs de risque retrouvés sont les mêmes, auxquels s'ajoutent la notion d'un

voyage à l'étranger notamment en zone endémique<sup>[73]</sup> et les infections urinaires récurrentes.<sup>[74]</sup>

Cependant aujourd'hui aucun paramètre ne permet de prédire à un instant « t » qu'un patient est porteur d'EBLSE à son arrivée, sauf en cas de dépistage antérieur.<sup>[75]</sup>

**Tableau V : Facteurs de risque d'infection ou de colonisation par les BLSE.**<sup>[72]</sup>

- **Âge élevé et dépendance.**
- **Comorbidités (dont le diabète, une maladie hépatique, une transplantation ou un ulcère gastrique).**
- **Séjour en réanimation.**
- **Durée d'hospitalisation avant la colonisation ou l'infection.**
- **Notion d'une hospitalisation récente.**
- **Procédures invasives (sonde urinaire, sonde nasogastrique, cathéter, intubation ou chirurgie).**
- **Utilisation préalable d'antibiotiques dont :**
  - **Les fluoroquinolones.**
  - **Les bêta-lactamines seules ou en association avec les IβL.**
  - **Les céphalosporines (dont la ceftazidime ou les C3G).**
  - **Les carbapénèmes.**
  - **La vancomycine.**
  - **Les aminosides.**
  - **Le métronidazole.**
  - **Le cotrimoxazole.**

### **III.5. Conséquences des infections par une bactérie BLSE :**

Une méta-analyse de 2007 étudiant l'impact des bactériémies à EBLSE sur la mortalité confirmait que ces dernières étaient associées à une plus grande mortalité et à un délai plus grand dans l'introduction d'une antibiothérapie adaptée. <sup>[76]</sup> Ces mêmes résultats ont été retrouvés dans une étude de 2011. <sup>[77]</sup> Cependant, pour les infections urinaires par EBLSE, la plupart des études ne concluait pas à une augmentation de la mortalité <sup>[78]</sup> ; en revanche, ces infections étaient clairement associées à un coût de santé plus important et à une durée d'hospitalisation plus longue. <sup>[79]</sup>

### **III.6. Conséquences en termes de prescription d'antibiotiques :**

La prévalence de patients porteurs et/ou infectés par une EBLSE est en constante augmentation. Dans la littérature, les patients ayant une bactériémie à EBLSE ont un risque significativement plus élevé de décès, en comparaison à ceux infectés par d'autres germes. <sup>[76]</sup> Un facteur responsable de cette surmortalité est le délai de mise en route d'une antibiothérapie empirique adaptée. C'est pourquoi on assiste aujourd'hui à une utilisation massive des carbapénèmes, en cas de suspicion de portage d'EBLSE. La consommation d'imipénème a ainsi doublé entre 1999 et 2009. <sup>[80]</sup> Ces constatations amènent plusieurs réflexions. Tout patient colonisé à EBLSE ne s'infectera pas forcément à EBLSE. Il n'existe aujourd'hui aucun facteur permettant de prédire si un patient est porteur d'une EBLSE ou non. <sup>[75]</sup> Dans une étude récente traitant la colonisation à l'admission de patients hospitalisés dans un service de médecine conventionnelle, aucun des patients colonisés par EBLSE ne développait d'infection au cours de son séjour. <sup>[75]</sup> À l'inverse, 40 % des patients infectés par

une EBLSE n'étaient pas connus porteurs d'EBLSE. Une meilleure connaissance des facteurs prédictifs du passage de la colonisation à l'infection pourrait donc permettre de rationaliser l'utilisation d'antibiothérapies probabilistes à large spectre. Cela conduit à deux conclusions : la première est que l'imipénème est probablement trop largement prescrit ; la seconde est que les méthodes de dépistage même systématisées ne sont que de peu d'apport face à un patient infecté porteur d'EBLSE.

La « surconsommation » d'imipénème est en passe de devenir désastreuse : après l'introduction de la pénicilline, sont apparues les « pénicillinases » ; après l'introduction des C3G, sont apparues les BLSE ; et aujourd'hui après l'utilisation massive de carbapénèmes, apparaissent les carbapénèmases déjà endémiques dans certaines régions d'Europe. <sup>[81]</sup> En Europe, on estime aujourd'hui que près de 25 000 décès sont imputables à des infections par des bactéries multirésistantes pour lesquelles il n'existe pas de traitement efficace. <sup>[82]</sup> L'Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé rappelle, dans un document de 2011, que l'usage large des carbapénèmes (notamment en probabiliste) serait une « fausse bonne solution : efficace à l'échelon individuel, mais à haut risque collectif car favorisant l'émergence de bactéries résistantes aux carbapénèmes ». <sup>[83]</sup>

### **III.7. Détection des EBLSE par biologie moléculaire :**

#### **III.7.1. Support génétique de la résistance :**

Comme nous l'avons évoqué précédemment, la plupart des BLSE dérivent par mutations de bêta-lactamases connues depuis longtemps comme TEM-1, TEM-2 ou encore SHV-2. <sup>[84, 85, 86]</sup> À l'heure actuelle, on recense plus de 100

enzymes de la famille TEM et plus de 25 enzymes de la famille SHV. On rencontre également d'autres familles d'enzymes comme les CTX-M décrites au début des années 1990.

Chez les familles TEM et SHV, seul un petit nombre de mutations ponctuelles au sein du gène est responsable du phénotype BLSE. Celles-ci vont entraîner une modification du site actif de l'enzyme aboutissant à une modulation de l'activité de la bêta-lactamase pouvant s'exprimer de façon variable selon le type d'enzyme vis-à-vis des différentes C3G alors que les carbapénèmes (imipénème, méropénème et ertapénème) conservent généralement leur activité. Chez les CTX-M, en revanche, la capacité à hydrolyser les C3G est intrinsèque et n'est pas la résultante de mutations d'une enzyme ancestrale. <sup>[87]</sup> Au niveau phénotypique, l'action de cette famille d'enzymes s'exerce essentiellement vis-à-vis du céfotaxime alors que les CMI de la ceftazidime sont peu affectées.

### III.7.2. TEM :

TEM-1 est la bêta-lactamase la plus fréquemment rencontrée chez les entérobactéries et peut être responsable de la résistance à l'ampicilline chez plus de 90 % des *E. coli*. <sup>[85]</sup> Comme en témoigne la **Fig. 6**, la substitution d'acides aminés en un nombre restreint de positions va être responsable de l'apparition de nouvelles enzymes entraînant un phénotype BLSE. En effet, la combinaison de ces changements d'acides aminés entraîne diverses modifications de la structure de la bêta-lactamase qui devient ainsi capable d'hydrolyser les oxy-imino céphalosporines comme le céfotaxime ou la ceftazidime. Certaines substitutions d'acides aminés sont particulièrement importantes, comme par exemple la

modification du glutamate en lysine en position 104, de l'arginine en sérine ou histidine en position 164, ou encore de la glycine en sérine en position 238 et du glutamate en sérine en position 240. De plus, ces mutations sont responsables d'une modification du point isolélectrique, ce qui peut constituer un moyen de les détecter. [88]

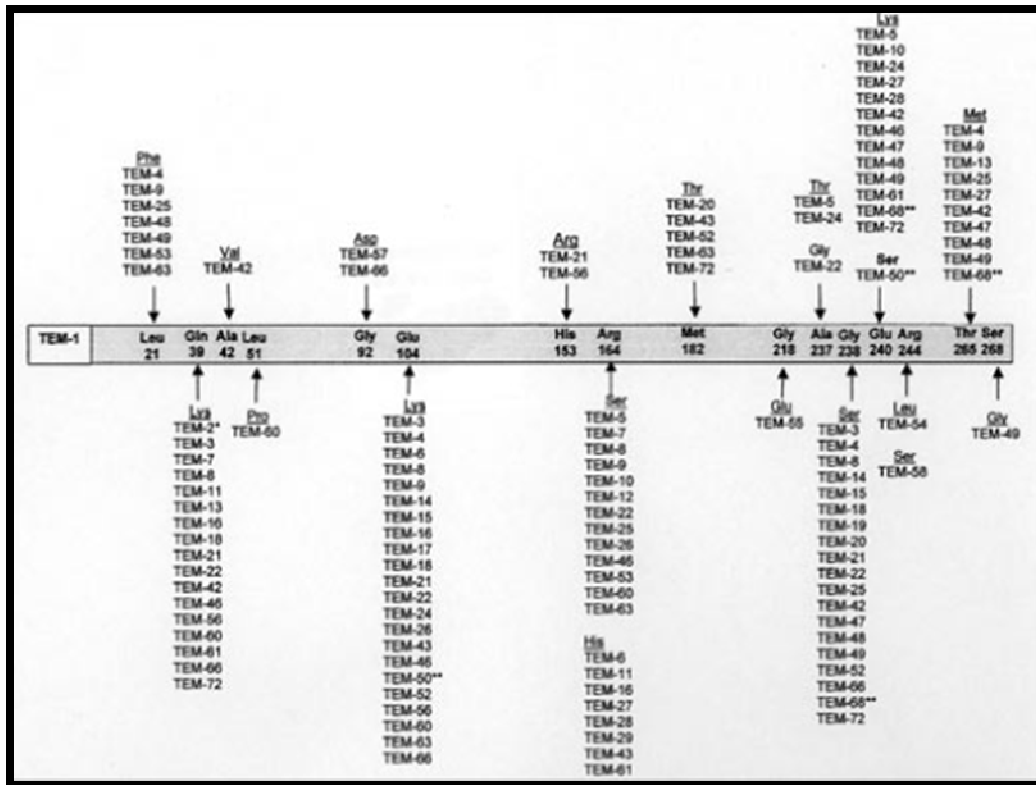
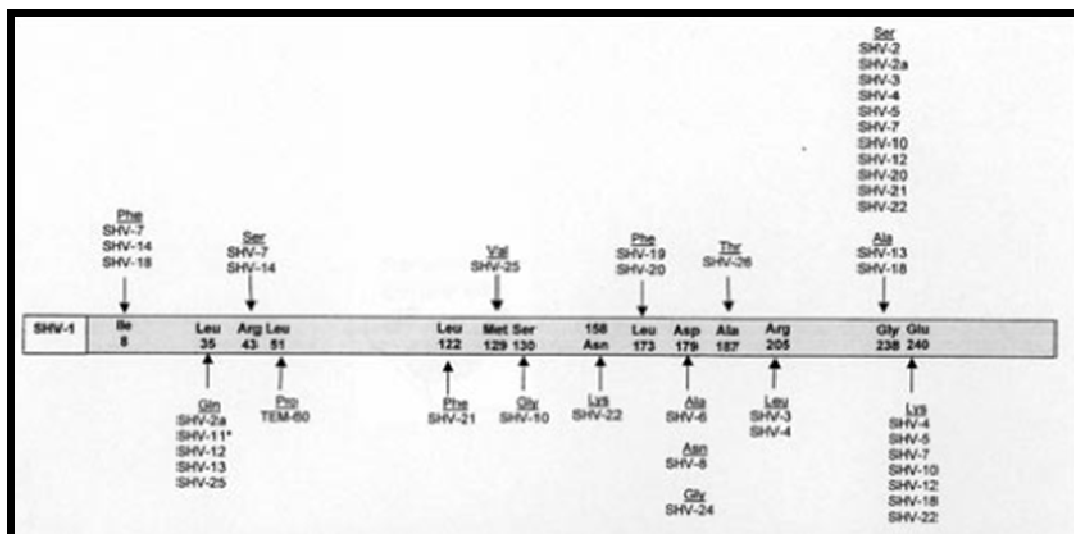


Figure 6 : Les enzymes de la famille TEM. [88]

### III.7.3. SHV :

La bêta-lactamase SHV-1 est fréquemment rencontrée chez *K. pneumoniae* et est responsable de plus de 20 % des résistances plasmidiques à l'ampicilline chez cette espèce. [89] Chez de nombreuses souches de *K. pneumoniae*, le gène

*blaSHV* est intégré au chromosome bactérien. <sup>[85]</sup> Bien que l'on suppose que le gène codant pour SHV-1 fasse partie d'un transposon, ceci n'a jamais été formellement démontré. <sup>[90]</sup> Contrairement aux bêta-lactamases de type TEM, il existe relativement peu de mutants de SHV comme le montre la **Fig. 7**. De plus, le nombre des mutations ponctuelles est également beaucoup plus réduit. En effet, la plupart des variants sont caractérisés par la présence d'une glycine en position 238 au lieu d'une sérine. Certains variants dérivés de SHV-5 possèdent également un glutamate à la place d'une lysine en position 240. Il est intéressant de noter que ces deux mutations se rapprochent de celles observées dans la famille TEM. Le résidu sérine en position 238 est capital pour l'hydrolyse active de la ceftazidime alors que le résidu lysine l'est pour le céfotaxime. <sup>[90]</sup>



**Figure 7** : Les enzymes de la famille SHV. <sup>[88]</sup>

### III.7.4.CTX-M :

De nouvelles enzymes non-TEM et non-SHV responsables d'un phénotype BLSE ont été décrites ces dernières années.

Parmi celles-ci, la famille CTX-M décrite dès 1989 hydrolyse préférentiellement le céfotaxime. Ces enzymes ne sont pas très proches des TEM et SHV mais partagent cependant 40 % d'homologie avec ces dernières. <sup>[91]</sup> Il semblerait que les CTX-M dérivent par transfert horizontal et mutation des bêta-lactamases chromosomiques AmpC de *Klyuvera georgiana* possédant 99 % d'homologie avec cette famille d'enzymes. <sup>[92]</sup> À l'heure actuelle, plus de 20 CTX-M ont été décrites et sont retrouvées préférentiellement chez *Salmonella typhimurium*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. Les CTX-M peuvent être divisées en 4 groupes selon leur séquence protéique comme le montre le **Tab.VI**. Au niveau phénotypique, on observe une synergie entre l'acide clavulanique, le céfotaxime et l'aztréonam alors que la sensibilité à la ceftazidime ne semble pas affectée. <sup>[93]</sup> En outre, le tazobactam présente un effet inhibiteur 10 fois supérieur à celui de l'acide clavulanique. <sup>[94]</sup>

**Tableau VI** : Les 4 groupes correspondant aux enzymes de la famille CTX-M. <sup>[88]</sup>

GROUPE CTX-M	ENZYMES
CTX-M1	TX-M1, -3, -10, -11, -12, -15
CTX-M2	CTX-M2, -4, -5, -6, -7, -20
CTX-M8	CTX-M8
CTX-M9	CTX-M9, -13, -16, -14, -15, -17, -19, -21

### III.7.5. Différents phénotypes de résistance et difficulté de détection :

Depuis de nombreuses années, différentes techniques ont été développées dans le but de favoriser la détection des BLSE au laboratoire. Les principales techniques sont basées sur la détermination des CMI du céfotaxime ou de la ceftazidime, ou encore sur la mise en évidence d'une synergie entre un inhibiteur de bêta-lactamases comme l'acide clavulanique et la ceftazidime et/ou l'aztréonam (indicateurs les plus sensibles) comme le préconisent les recommandations du CA-SFM et du NCCLS. Cependant, une étude récente a estimé à environ 33 % le taux de BLSE non détectées en Europe par les méthodes classiques.<sup>[95]</sup> En effet, bien que les CMI des C3G vis-à-vis des micro-organismes BLSE soient souvent plus élevées que celles des organismes non producteurs de BLSE, ces valeurs ne sont pas toujours supérieures aux valeurs critiques, ce qui peut entraîner un défaut de détection par les techniques classiques. De plus, toutes les BLSE n'expriment pas le même phénotype. Ainsi, les souches productrices exprimant SHV-6 ou -8 n'expriment qu'une faible résistance à la ceftazidime. En revanche, les souches exprimant SHV-2, -2a ou -3 sont fortement résistantes à la ceftriaxone et céfotaxime alors que la résistance à la ceftazidime reste modeste. Quant aux souches productrices de SHV-4, -5, -9, -10 et -12, elles présentent les phénotypes de résistance les plus élevés à toutes les C3G. Dans cette optique, Tenover *et al.* ont montré que plus de 30 % de souches initialement étiquetées sensibles aux céphalosporines étaient en fait productrices de BLSE.<sup>[96]</sup> Ce problème de détection est accru chez les souches porteuses d'autres mécanismes de résistance comme la production d'un céphalosporinase inductible ou la modification de porines responsables d'une imperméabilité.<sup>[97,98]</sup> De plus, on connaît également l'importance de l'« effet

inoculum » par le biais duquel les valeurs des CMI augmentent parallèlement à la quantité de bactéries présentes <sup>[99,100]</sup> et qui se manifeste aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* comme en témoignent des modèles animaux d'infections intra-abdominales ou d'endocardites. <sup>[101,102]</sup>

### **III.7.6. Les techniques de détection moléculaire :**

Comme nous venons de le développer, la détection des souches productrices de BLSE par des techniques uniquement phénotypiques peut se heurter à des difficultés, ce qui a conduit au cours des dernières années au développement de différentes techniques de biologie moléculaire visant à rechercher directement la présence du support génétique au sein des souches isolées. Alors que certaines techniques comme le séquençage permettent la mise en évidence de nouvelles enzymes, d'autres s'appliquent plus volontiers à l'identification d'un clone caractérisé dans un contexte épidémique (PCR, SSCP, PCR en temps réel...). Ce caractère est donc particulièrement important dans le choix de la technique à mettre en œuvre, tout comme la durée nécessaire qui varie selon la méthode utilisée. <sup>[88]</sup>

#### **a. Sondes d'ADN :**

Une des premières techniques de détection des BLSE a été basée sur la recherche de séquences complémentaires en utilisant des sondes d'ADN spécifiques des gènes TEM et SHV. Ce genre de technique a, à l'heure actuelle, une valeur historique mais semble relativement limitée en termes d'utilisation au laboratoire. En effet, de nombreux variants de TEM et SHV ont été cités depuis la description de cette technique, ce qui multiplie le nombre de sondes à mettre en œuvre. De plus, il semblerait que la méthode ne permette pas toujours de

faire la différence entre les BLSE et les entérobactéries non productrices de BLSE et qu'il existe des difficultés à distinguer les variants de TEM et SHV.

[103,104]

### **b. Oligotyping :**

La première méthode de détection des bêta-lactamases par oligotyping a été décrite à la fin des années 1980 par Ouellette *et al.* et permettait de détecter TEM-1 et SHV-2. <sup>[105]</sup> Cette technique mettait en œuvre des sondes oligonucléotidiques choisies de façon à détecter les zones de mutations par hybridation.

Quelques années plus tard, Mabilat et Courvalin ont développé d'autres sondes oligonucléotidiques pouvant être marquées soit avec un radioisotope, soit avec des nucléotides biotinylés. <sup>[106,107]</sup> Les auteurs ont ainsi pu étendre la méthode à la détection de 6 autres variants du gène *bla*TEM. De manière intéressante, de nouveaux variants de TEM ont été mis en évidence grâce à cette technique. Cependant, étant donné le nombre de variants de TEM existant à l'heure actuelle, cette technique semble relativement lourde à mettre en œuvre du fait de la nécessité d'une sonde spécifique de chaque type d'enzyme. Cette technique comme la précédente permet d'obtenir un résultat en 48 h alors que la PCR permet un gain de temps avec des résultats en 24 h.

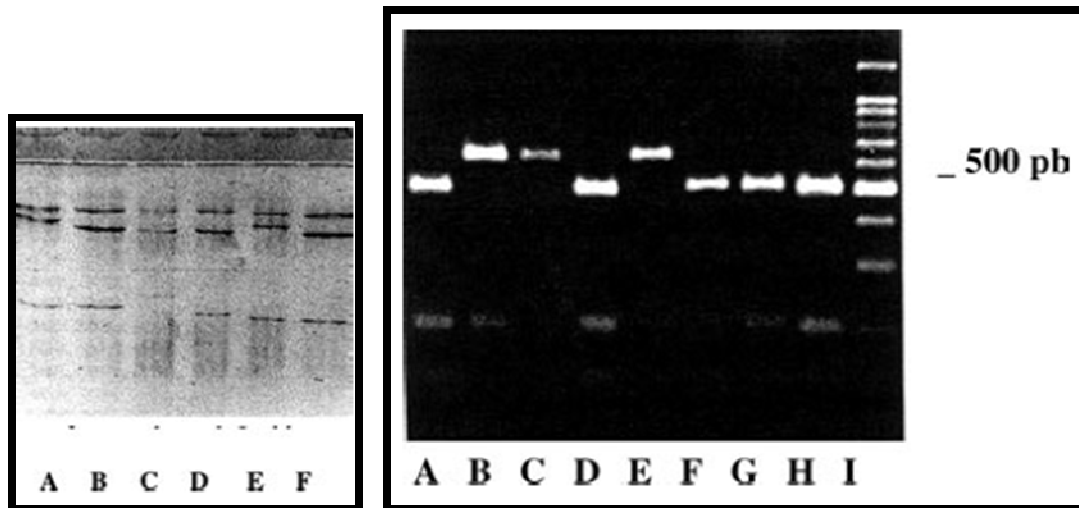
### **c. PCR :**

Une des méthodes moléculaires les plus sensibles et faciles repose sur l'amplification de chaque famille d'enzymes par des couples d'amorces spécifiques. Ces amorces peuvent être choisies après analyse du génome. Les oligonucléotides sont généralement choisis de façon à s'hybrider avec des

régions relativement conservées. Cependant ce type de méthode pose un problème si elle n'est pas associée à une analyse complémentaire car elle ne permet pas de faire la distinction entre les différents variants de TEM et SHV et de par là même, ne permet pas la distinction entre les enzymes responsable d'un phénotype BLSE ou non-BLSE. <sup>[108,109]</sup> Il est donc intéressant de coupler l'amplification génique à certaines techniques (séquençage, RFLP et SSCP).

#### d. PCR-SSCP :

La SSCP ou Single Strand Conformational Polymorphism est une méthode permettant la détection de polymorphismes génétiques par différence des profils de migration de fragments préalablement amplifiés. Comme le montre la **Fig. 8**, cette méthode est particulièrement intéressante pour effectuer un screening relativement rapide (24 h de plus par rapport à une PCR), en particulier d'éventuels mutants de SHV, mais ne peut en aucun cas apporter des informations sur le type de BLSE. De plus, le choix du fragment amplifié peut être un facteur limitant car, comme le montrent Chanawong *et al.*, cette technique ne permet pas de distinguer SHV-1, -3, -2a et -11 dans les conditions choisies par les auteurs. <sup>[110]</sup> En effet, les 4 profils de migration obtenus sont totalement identiques car ces variants sont caractérisés par la présence d'une glutamine à la place d'une leucine en position 35 qui ne se trouve pas incluse dans le fragment choisi pour être analysé. De plus, les bactéries exprimant SHV-5 et -12 ne peuvent pas être distinguées pour des raisons analogues. Dans le but d'affiner cette technique, il est donc conseillé de la coupler à d'autres techniques comme la PCR-RFLP (**Fig. 9**). En revanche, elle permet de détecter de nouveaux variants de SHV ou de mettre en évidence la présence concomitante de plusieurs types de SHV dans une même souche bactérienne. <sup>[111]</sup>



**Figure 8** : Analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-SSCP. <sup>[88]</sup>

**Figure 9** : Analyse des enzymes de la famille SHV par PCR-RFLP. <sup>[88]</sup>

#### e. PCR-RFLP :

Une autre approche réside dans l'utilisation d'enzymes de restriction après amplification génique des séquences. Cette technique a essentiellement été appliquée à la détection des BLSE de la famille TEM au début des années 1990. <sup>[112]</sup> Dans ce type de test, les amplifiats sont digérés par plusieurs enzymes de restriction (*Sau3aI*, *HhaI*, *MseI*) avant d'être soumis à une électrophorèse. De cette manière, Arlet *et al.* ont été à même de détecter la présence de plus de 20 enzymes de la famille TEM et ont notamment permis de mettre en évidence TEM-29. <sup>[112]</sup> Quelques années plus tard, la méthode a ensuite été appliquée à la détection des mutants de la famille SHV.

Nüesch-Inderbinnen *et al.* ont ainsi couplé l'amplification de séquences du gène *blaSHV* à la digestion par *NheI* permettant la détection de la mutation en

position 238 la plus fréquente chez les BLSE et responsable de la substitution d'une glycine en sérine au niveau du site actif de l'enzyme. <sup>[110]</sup> Bien que cette technique ne puisse déterminer avec précision le type de variant de SHV impliqué, elle présente cependant l'avantage majeur de permettre un screening relativement rapide d'éventuelles BLSE, on peut ainsi obtenir un résultat en environ 48 h après l'isolement. Différents auteurs ont par la suite évalué cette technique par rapport à la détection par E-test (C3G additionnée ou non d'acide clavulanique) et ont pu montrer que seulement 52 % des souches BLSE étaient détectées par ce dernier alors que la PCR-RFLP permettait une détection systématique. <sup>[113]</sup> Cependant, la méthode peut être limitée pour détecter certaines mutations. Ainsi SHV-3, -4, -7 et -13 sont difficilement identifiables par PCR-RFLP. <sup>[111]</sup>

Une modification de cette technique peut consister en l'insertion d'un site de restriction (RSI-PCR). Comme l'on récemment montré Chanawong et *al.*, cette méthode s'applique à la détection des mutants SHV de manière rapide et simple. <sup>[114]</sup> Elle est basée sur l'utilisation d'amorces à l'intérieur desquelles il existe 1 à 3 bases non complémentaires au niveau de l'extrémité 3' de façon à modifier le site de restriction de différentes enzymes (*SspI*, *HinfI*, *PstI*, *BsrI* et *NruI*). Il est ainsi possible de détecter certains mutants dont la détection n'est pas toujours évidente comme SHV-6, -8, -14, -18 à -23 ainsi que SHV-25 à -27. Ainsi la RSI-PCR permet d'étendre la détection à 27 variants grâce à la technique de RFLP.

Une dernière possibilité consiste à coupler la PCR-RFLP à un screening préalable par la technique de SSCP.

Cette méthode, développée au début des années 2000, permet de détecter des mutations ponctuelles portant sur des sites bien définis du gène *blaSHV*.<sup>[115]</sup>

Dans ce test, des fragments de 475 pb sont générés par une amplification faisant intervenir des amorces internes à la séquence codant pour le gène *blaSHV*.

Les fragments sont ensuite soumis à une digestion par *PstI*, puis dénaturés. Une électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 20 % complète l'analyse. De cette façon, les gènes codant pour SHV-1, -2, -3, -4, -5 et -7 peuvent être détectés.

De plus, Chanawong *et al.* ont montré que si l'on combine les techniques de PCR-SSCP et PCR-RFLP, on peut détecter jusqu'à 17 variants de SHV. Cependant, SHV-2a ne peut pas être distingué de SHV-2, tout comme SHV-15 de SHV-5.<sup>[110]</sup>

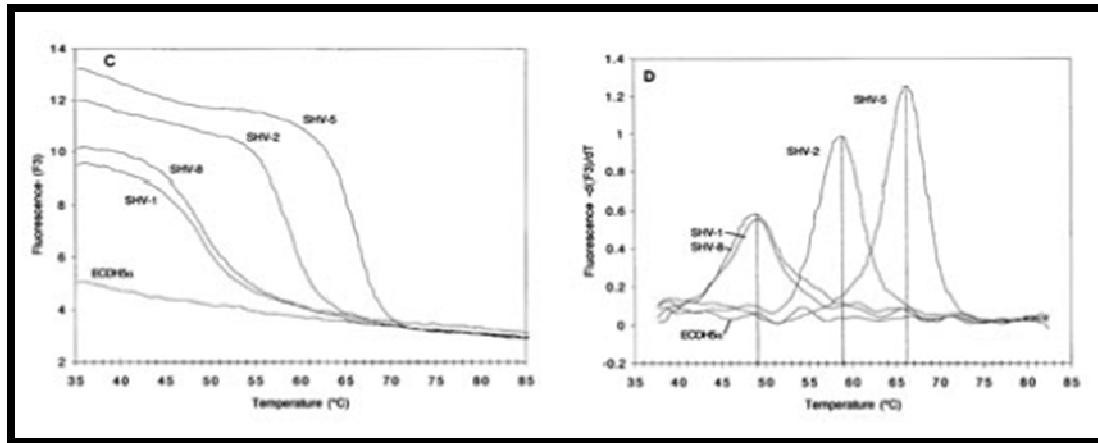
#### **f. Ligase Chain Reaction :**

Cette méthode est essentiellement appliquée à la détection des gènes SHV.<sup>[116]</sup> La Ligase Chain Reaction ou LCR permet la discrimination de séquences d'ADN différant par une seule paire de bases grâce à l'utilisation d'une ligase thermostable et d'amorces composées de 4 oligonucléotides complémentaires de la séquence cible et s'hybridant les unes à côté des autres. Une seule différence de base au niveau de la jonction entre les nucléotides entraînera un défaut de ligation se traduisant par une absence d'amplification. Dans ce type de test, l'ADN cible contenant le gène *blaSHV* est dénaturé dans un thermocycleur et hybridé avec des oligonucléotides biotinylés pouvant détecter des mutations présentes en 4 positions. La production de la LCR est détectée par une réaction

enzymatique faisant intervenir la NADPH-phosphatase alcaline. Cette méthode permet de détecter jusqu'à 7 variants en 24 h.<sup>[88]</sup>

**g. PCR en temps réel :**

Cette technique en plein essor au niveau du diagnostic bactériologique a été appliquée à la détection des mutants de SHV au début des années 2000 par Randegger et *al.*<sup>[117]</sup> (**Fig. 10**). Elle fait intervenir des sondes oligonucléotidiques marquées par un fluorophore permettant l'analyse des courbes de fusion des amplifiats en temps réel sur un LightCycler<sup>®</sup>. Les auteurs ont ainsi appliqué cette technique à la détection de mutations présentes au niveau de 3 codons majeurs (en position 179, 238 et 240) du gène *blaSHV* au cours d'une seule et même réaction. L'avantage majeur de cette technique réside dans sa simplicité et sa rapidité. En effet, il est ainsi possible d'obtenir des résultats en moins d'une heure. Pour le moment, elle ne s'adresse qu'à la détection des mutants SHV mais pourra être adaptée d'une part à la recherche de mutants nouvellement décrits dans cette famille ainsi qu'à la détection des variants TEM nécessitant le *design* des amorces spécifiques de mutations recherchées. Cependant, elle ne s'adresse à l'heure actuelle qu'aux laboratoires possédant un appareillage spécifique.<sup>[88]</sup>



**Figure 10** : PCR en temps réel. <sup>[88]</sup>

### **h. Séquençage :**

Le séquençage reste la technique de choix pour la détection des BLSE. Bien que réservée à des laboratoires équipés d'un appareillage adéquat, cette méthode permet par comparaison avec les séquences obtenues de bases de données (GENBANK, CLUSTAL W) de détecter simultanément toutes les BLSE en environ 24 h sans disposer de sondes spécifiques de chaque mutation. Dans le passé, certains résultats plus ou moins variables pouvaient être attribués à la technique de détection mise en œuvre. <sup>[118]</sup> En effet, il est possible que la variabilité de séquence observée pour certains variants SHV soit reliée à la difficulté d'interprétation des autoradiogrammes plutôt qu'à de véritables variations de séquences, phénomène duquel on s'affranchit avec les nouveaux analyseurs. <sup>[88]</sup>

### **i. Miniséquençage :**

Une variante très simplifiée de la technique précédente a été développée en 2001 par Howard et *al.* Elle consiste à réaliser un mini-séquençage basé sur le changement du premier nucléotide.<sup>[119]</sup> Cette méthode a été décrite pour la mise en évidence de mutations de l'angiotensinogène<sup>[120]</sup>, du CFTR<sup>[121]</sup>, ou encore de l'ADN mitochondrial.<sup>[122]</sup> Elle se base sur l'hybridation d'une amorce immédiatement après le site susceptible d'être muté et l'identification du nucléotide de la base incorporée.

L'avantage de cette technique est qu'elle peut être réalisée en microplaques et peut être facilement automatisée. Cependant, à l'heure actuelle, elle n'a été développée que pour la détection des variants SHV.<sup>[88]</sup>

Deuxième partie :  
Partie pratique

## **I-Introduction :**

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes de classe A plasmidiques, qui présentent un potentiel de diffusion et une prévalence justifiant une surveillance épidémiologique. Elles confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> génération et à au moins une céphalosporine de 3/4<sup>e</sup> génération (C3/4G) ou à l'aztréonam. La sensibilité aux associations pénicillines-inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases est souvent conservée. Cependant le phénotype de résistance varie avec la nature de la BLSE produite et selon leur niveau de production. L'association pipéracilline-tazobactam est l'association pénicilline-inhibiteur la plus souvent active. La mise en évidence des BLSE repose sur la détection d'une synergie entre au moins une C3/4G ou l'aztréonam et le clavulanate. [39]

L'objectif de notre étude est d'évaluer la prévalence de résistance aux bêta-lactamines par production de BLSE chez les différentes souches des entérobactéries isolées au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Ibn Sina de Rabat des différents prélèvements biologiques pendant une période de sept mois.

## **II-Matériels et méthodes :**

### **II.1. Période d'étude :**

Il s'agit d'une étude prospective réalisée au sein du laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Ibn Sina de Rabat (CHISR), et portant sur 1721 souches d'entérobactéries dont 319 sont productrices de BLSE, isolées de divers prélèvements dans différents services de l'Hôpital. L'étude a été conduite du 1<sup>er</sup> Janvier au 31 Juillet 2012.

### **II.1.1.Nature des prélèvements étudiés :**

Les souches d'entérobactéries ont été isolées à partir de différents prélèvements à savoir les prélèvements respiratoires, pus des plaies opératoires, urines, cathéters, liquide céphalo-rachidien (LCR), hémoculture et écouvillonnage anal ; buccal et vaginal.

### **II.1.2. Services originaires des souches :**

Différents services hospitaliers ont été concernés par notre étude parmi eux on note : Service de cardiologie ; de chirurgie ; de dermatologie ; d'endocrinologie ; de gynécologie ; d'hémo-oncologie pédiatrique ; de médecine ; de néphrologie hémodialyse ; de neurologie ; de pédiatrie médicale ; de pneumologie ; de réanimation (adulte) ; de réanimation pédiatrique ; de rhumatologie ; de traumatologie et d'urologie.

## **II.2.Souches bactériennes et leur sensibilité aux antibiotiques :**

### **II.2.1.Souches bactériennes :**

L'étude porte sur mille sept cent vingt et une souche d'entérobactéries dont trois cents dix neuf entérobactéries sécrétrices de BLSE, isolées des différents prélèvements.

### **II.2.2.Critères d'inclusion :**

Ont été inclus dans l'étude, tous les résultats d'antibiogramme interprétés des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez les malades hospitalisés ou consultants.

### **II.2.3.Élimination des doublons :**

Les souches isolées d'un même malade, au niveau du même site anatomique et dont le profil de sensibilité est identique et / ou présente au moins une différence mineure S/I ou I/R ont été considérées comme doublons et donc éliminées.

### **II.2.4.Isolement et identification bactérienne :**

L'isolement des souches a été réalisé par mise en culture des prélèvements sur différents milieux gélosés (Milieu CLED pour les prélèvements d'urine, Milieu de MacConkey pour les autres prélèvements).

L'identification est faite sur la base des caractères biochimiques à l'aide des galeries BD Phoenix<sup>®</sup>. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne ajustée à 0,5 Mac Farland.

### **II.2.5.Étude de la sensibilité aux antibiotiques :**

Pour chaque souche, la sensibilité a été déterminée par deux types d'antibiogrammes après une dilution de 1/100 à partir d'une suspension bactérienne ajustée à 0,5 Mac Farland selon les recommandations du « CA-SFM »: antibiogramme standard par inondation selon la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton et un antibiogramme automatisé (BD Phoenix<sup>®</sup>) en milieu liquide.

**Tableau VII : Différents Bêta-lactamines utilisés pour l'antibiogramme.**

<b>Pénicillines</b>	Pénicilline A	Ampicilline (AM) ou Amoxicilline (AMX)
		Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)
	Uréidopénicillines	Pipéracilline(PIP)
		Pipéracilline + tazobactam (PTZ)
	Carboxypénicillines	Ticarcilline (TIC)
		Ticarcilline + acide clavulanique (TIM)
<b>Céphalosporines</b>	C1G	Céfalotine ;Céfazoline ;Céfalexine
	C2G	Céfuroxime ;Céfoxitine
	C3G	Céfotaxime ; Céftazidime ; Céftriaxone ; Céfexime ; Céfpodoxime
	C4G	Céfpirone ; Céfepime
<b>Carbapénèmes</b>		Imipénème (IPM) ; Ertapénème (ERT)

Autres familles d'antibiotiques ont été testées : Aminosides (Gentamicine, Tobramicine, Amikacine), Quinolones (Acide nalidixique), Fluoroquinolones (Ofloxacine, Ciprofloxacine), Sulfamides (Sulfaméthoxazol + Triméthoprime), et les nitrofuranes.

Les souches bactériennes ont été classées en trois catégories cliniques : sensible (S), intermédiaire (I) et résistante (R). Les souches I ont été groupées avec les souches R pour l'ensemble des analyses.

L'interprétation de la sensibilité aux antibiotiques a été faite selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).<sup>[124]</sup>

## **II.2.6. Détection du caractère BLSE :**

### **a. Méthodes manuelles : Méthode de la diffusion en milieu gélosé.**

Une ou plusieurs boîte(s) selon les cas, contenant le milieu de Mueller-Hinton spécifiquement destiné à cette méthode, sont inoculées par inondation à l'aide de la suspension bactérienne préalablement calibrée.<sup>[125]</sup>

Les disques imprégnés d'antibiotiques sont alors disposés à la surface de la gélose et l'antibiotique diffuse très rapidement de manière concentrique autour de chaque disque. Les boîtes peuvent alors être mises en incubation à 37°C dans les conditions requises (atmosphère ambiante, sous tension réduite en O<sub>2</sub>, en anaérobiose...)<sup>[125]</sup>.

La lecture et l'interprétation peuvent s'effectuer dans un délai minimal de 16 à 18 heures. La lecture consiste à mesurer les diamètres d'inhibition de la culture autour de chaque disque soit manuellement (double décimètre ou pied à coulisse) soit automatiquement à l'aide d'un automate de lecture équipé d'un lecteur vidéo fixe.<sup>[125]</sup>

Dans tous les cas l'ensemble des sensibilités/ résistances est saisi ou transmis sur un système informatique paramétré pour intégrer ces données.<sup>[125]</sup>

#### **a.1. Test de détection par synergie :**<sup>[126]</sup>

La recherche du phénotype BLSE est réalisée sur l'antibiogramme selon la technique de synergie décrite par Jarlier et al., en plaçant les disques de CTX (30

$\mu\text{g}$ ) et de CAZ (30  $\mu\text{g}$ ) à une distance de 20-30 mm ( de centre à centre) d'un disque d'amoxicilline / acide clavulanique ( 20/10  $\mu\text{g}$ ). Ceci permet de mettre en évidence (après incubation de 24 h à 37°C) une augmentation très nette du diamètre d'inhibition des disques contenant les C3G en regard du disque contenant l'acide clavulanique / amoxicilline, prenant ainsi la forme d'un « bouchon de champagne » pour les souches productrices de BLSE (**Fig.11**).



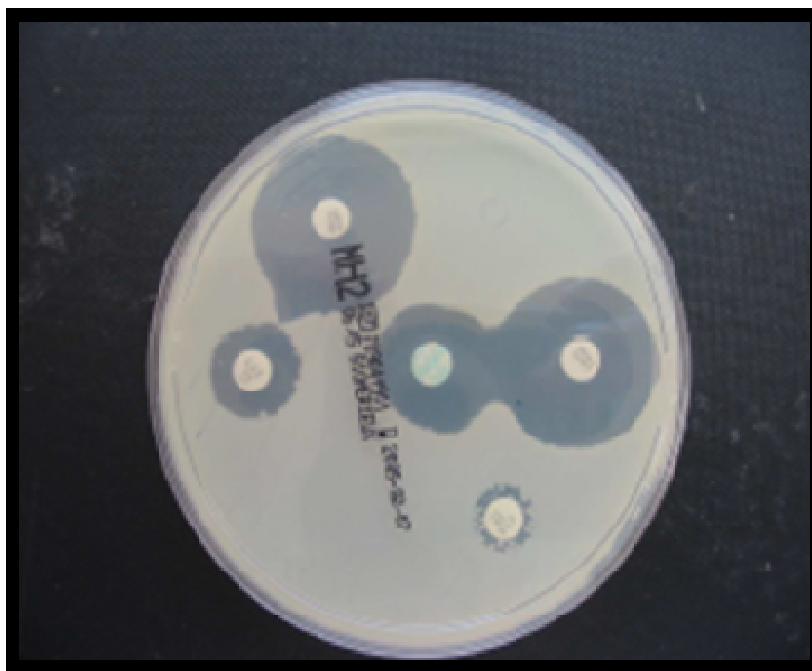
**Figure 11** : Test de synergie positif pour une souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE. <sup>[127]</sup>

### **a.2. Méthode des disques combinés** : <sup>[126]</sup>

Cette méthode consiste à placer sur une gélose Mueller-Hinton 2 préalablement inoculée avec une suspension bactérienne ajustée à 0,5 Mac

Farland, 2 couples d'antibiotiques ; un disque de CTX en regard d'un disque de CTX / acide clavulanique à une distance de 25 mm (de centre à centre), et un disque de CAZ en regard d'un disque de CAZ / Acide clavulanique (même distance).

Une augmentation  $\geq$  à 5 mm du diamètre d'inhibition des disques contenant l'acide clavulanique par rapport à ceux qui n'en contiennent pas, est en faveur de la présence d'une BLSE (**Fig.12**).



**Figure 12** : Méthode des disques combinés (Test positif).<sup>[126]</sup>

### **b. Méthodes automatiques :**

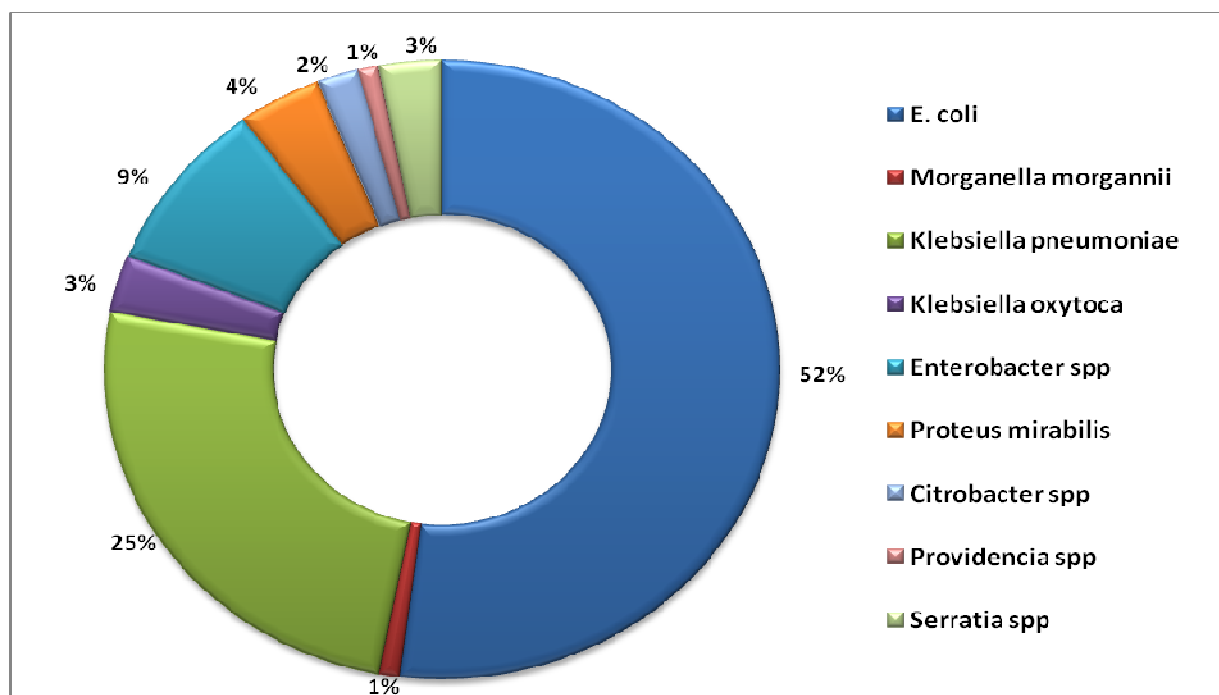
Le Phoenix® est l'automate d'analyse utilisé en routine au laboratoire, il permet l'identification du germe et l'établissement de l'antibiogramme par la détermination des CMI pour une large gamme d'antibiotiques.

### III-Résultats :

#### III.1. Répartition globale des Entérobactéries selon les espèces :

**Tableau VIII** : Répartition globale des Entérobactéries selon les espèces.

Entérobactéries	Nombre	Fréquence
<i>E. coli</i>	894	52%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	424	25%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	48	3%
<i>Enterobacter spp</i>	150	9%
<i>Proteus mirabilis</i>	72	4%
<i>Proteus vulgaris</i>	6	0%
<i>Salmonella spp</i>	8	0%
<i>Citrobacter spp</i>	30	2%
<i>Providencia spp</i>	17	1%
<i>Morganella morganii</i>	17	1%
<i>Serratia spp</i>	49	3%
Autres	6	0%
<b>Total</b>	<b>1721</b>	<b>100%</b>

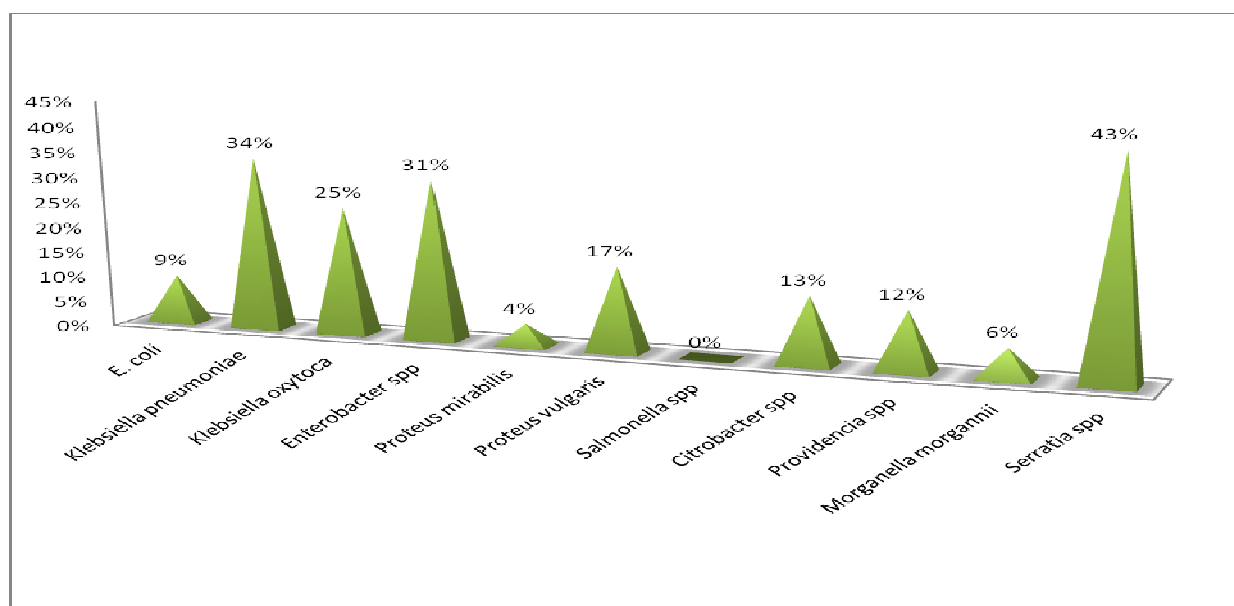


**Figure 13** : Répartition globale des Entérobactéries selon les espèces.

### III.2. Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries :

**Tableau IX** : Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries.

Germes isolés	Entérobactéries	BLSE	Fréquence
<i>E. coli</i>	894	84	9%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	424	144	34%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	48	12	25%
<i>Enterobacter spp</i>	150	47	31%
<i>Proteus mirabilis</i>	72	3	4%
<i>Proteus vulgaris</i>	6	1	17%
<i>Salmonella spp</i>	8	0	0%
<i>Citrobacter spp</i>	30	4	13%
<i>Providencia spp</i>	17	2	12%
<i>Morganella morgannii</i>	17	1	6%
<i>Serratia spp</i>	49	21	43%
Autres	6	0	0%
<b>Total</b>	<b>1721</b>	<b>319</b>	<b>18%</b>

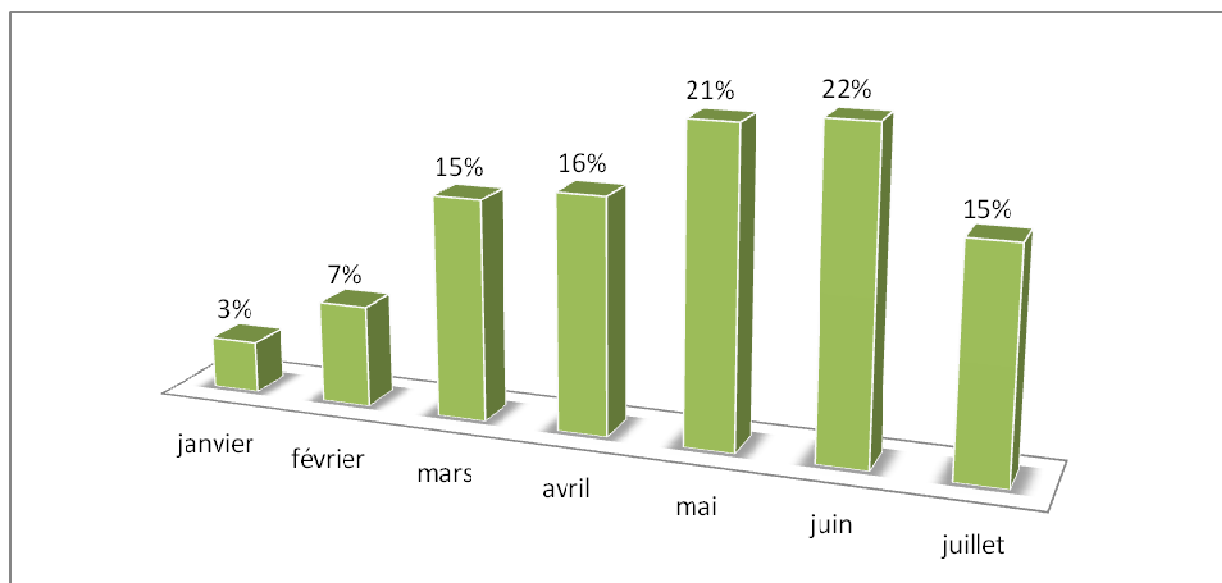


**Figure 14** : Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries.

### III.3. Répartition des souches des BLSE selon les mois d'isolement :

**Tableau X** : Répartition des souches des BLSE selon les mois d'isolement.

Mois	Nombre	Fréquence
Janvier	11	3%
Février	22	7%
Mars	48	15%
Avril	51	16%
Mai	68	21%
Juin	70	22%
Juillet	49	15%
<b>Total</b>	<b>319</b>	<b>100%</b>

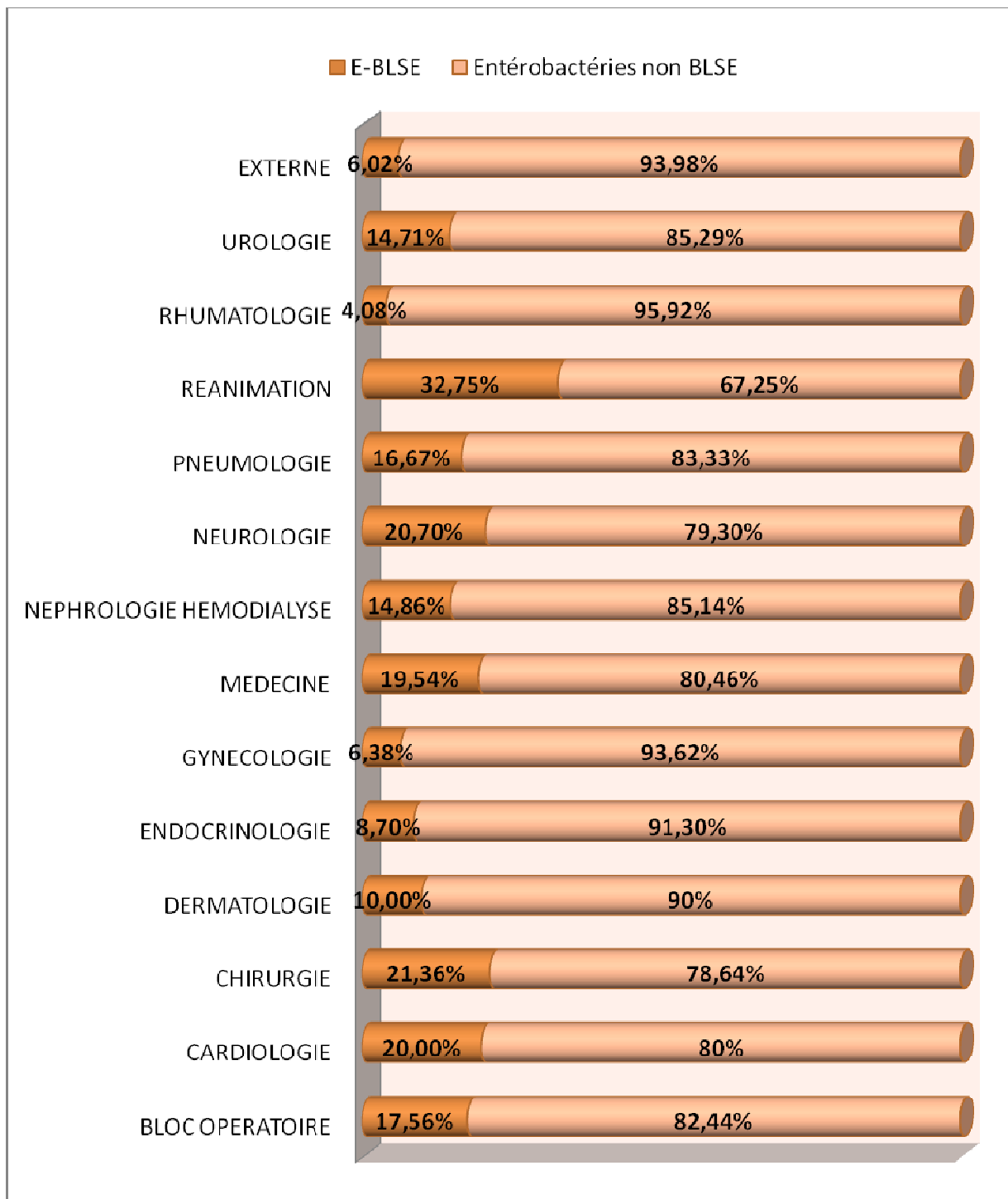


**Figure 15** : Répartition des souches des BLSE selon les mois d'isolement.

### III.4. Répartition des souches des BLSE selon les services hospitaliers :

**Tableau XI : Répartition des souches des BLSE selon les services hospitaliers.**

Les Services	Entérobactéries	E-BLSE	Fréquence des E-BLSE
	Nombre	Nombre	
BLOC OPERATOIRE	74	13	17,56%
CARDIOLOGIE	25	5	20,00%
CHIRURGIE	117	25	21,36%
DERMATOLOGIE	10	1	10,00%
ENDOCRINOLOGIE	23	2	8,70%
GYNECOLOGIE	47	3	6,38%
MEDECINE	220	43	19,54%
NEPHROLOGIE HEMODIALYSE	74	11	14,86%
NEUROLOGIE	29	6	20,70%
PNEUMOLOGIE	12	2	16,67%
REANIMATION	461	151	32,75%
RHUMATOLOGIE	49	2	408%
UROLOGIE	231	34	14,71%
EXTERNE	349	21	6,02%
<b>Total</b>	<b>1721</b>	<b>319</b>	<b>18,53%</b>

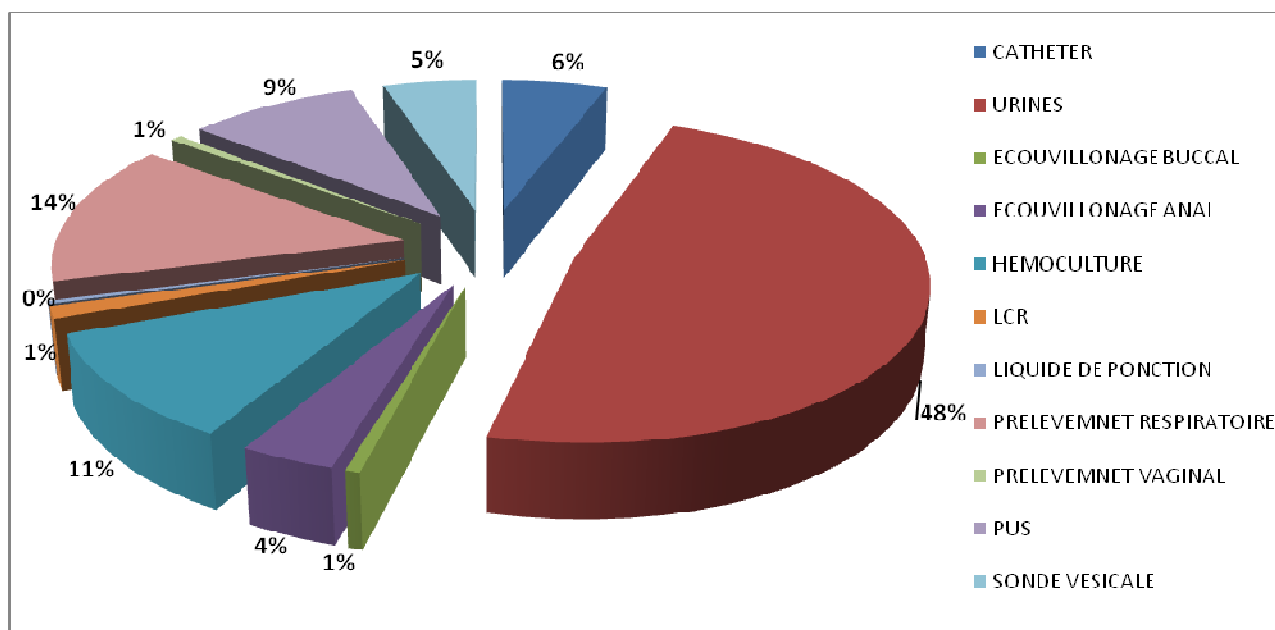


**Figure 16 : Répartition des souches des BLSE selon les services hospitaliers.**

### III.5. Répartition des souches des BLSE selon la nature des prélèvements :

**Tableau XII** : Répartition des souches des BLSE selon la nature des prélèvements.

Prélèvement	Nombre	Fréquence
CATHETER	18	6%
URINES	154	48%
ECOUVILLONNAGE BUCCAL	2	1%
ECOUVILLONNAGE ANAL	12	4%
HEMOCULTURE	35	11%
LCR	4	1%
LIQUIDE DE PONCTION	1	0%
PRELEVEMNET RESPIRATOIRE	46	14%
PRELEVEMNET VAGINAL	2	1%
PUS	29	9%
SONDE VESICALE	16	5%
<b>Total</b>	<b>319</b>	<b>100%</b>

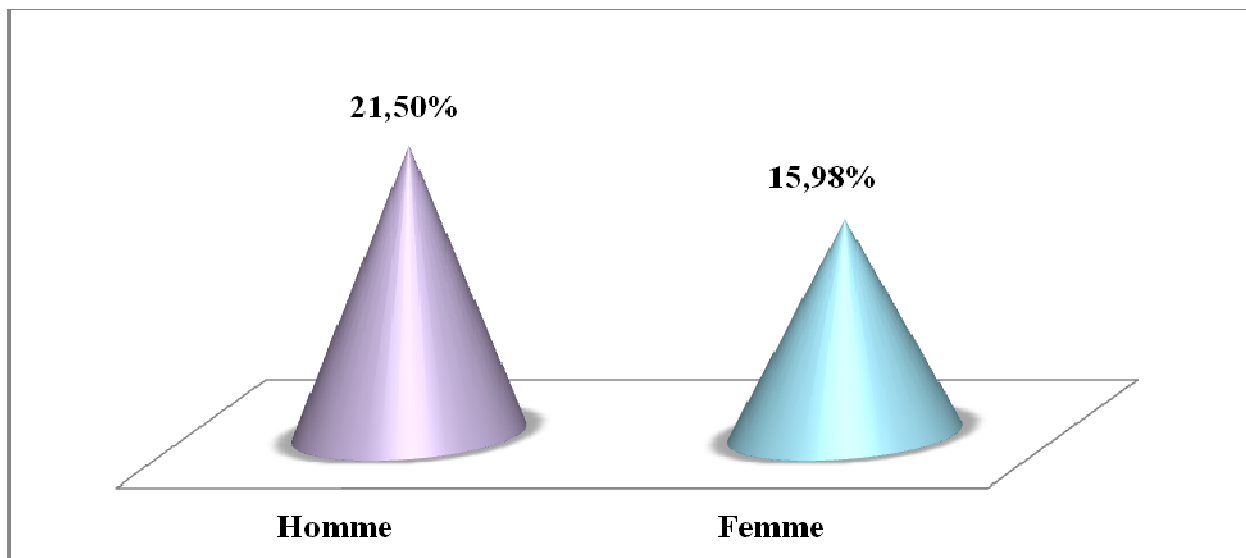


**Figure 17** : Répartition des souches des BLSE selon la nature des prélèvements.

### III.6. Répartition des souches des BLSE selon le sexe :

**Tableau XIII** : Répartition des souches des BLSE selon le sexe.

Sexe	Nombre		Fréquence
	Entérobactéries	E-BLSE	
Homme	795	171	21,50%
Femme	926	148	15,98%
<b>Total</b>	<b>1721</b>	<b>319</b>	<b>37,48%</b>

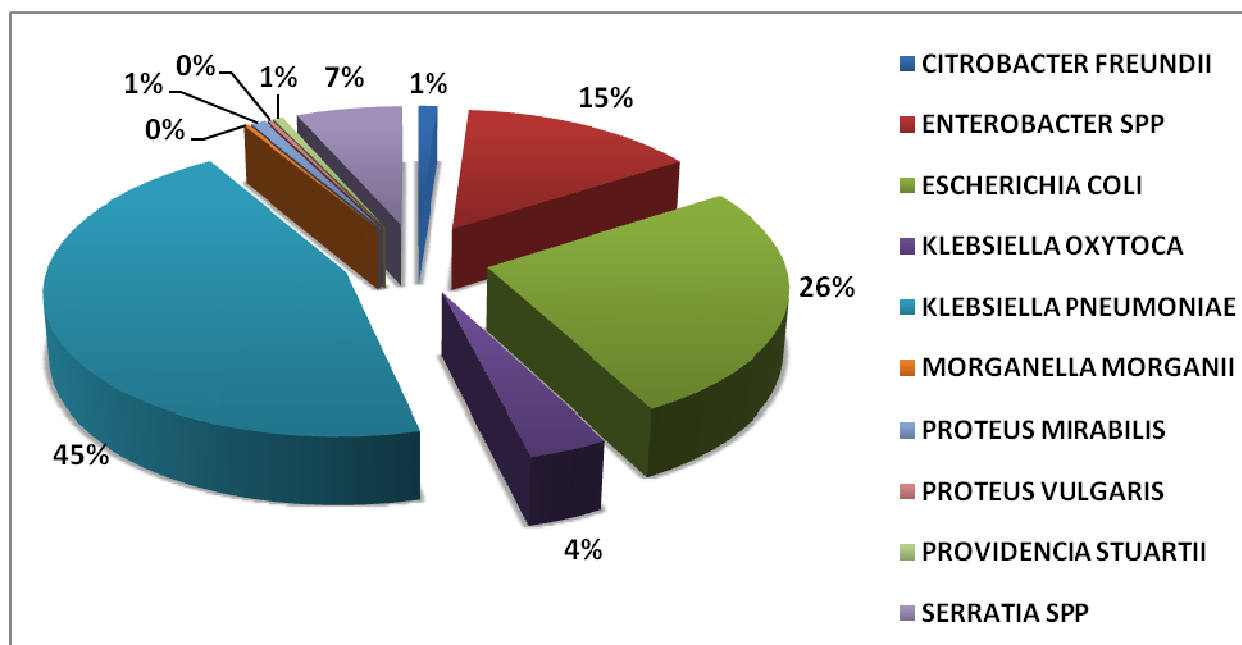


**Figure 18** : Répartition des souches des BLSE selon le sexe.

### III.7. Répartition des souches des BLSE selon les germes isolés :

**Tableau XIV** : Répartition des souches des BLSE selon les germes isolés.

Germes Isolés	Nombre	Fréquence
<i>Citrobacter freundii</i>	4	1%
<i>Enterobacter spp</i>	47	15%
<i>Escherichia coli</i>	84	26%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12	4%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	144	45%
<i>Morganella morganii</i>	1	0%
<i>Proteus mirabilis</i>	3	1%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0%
<i>Providencia stuartii</i>	2	1%
<i>Serratia spp</i>	21	7%
<b>Total</b>	<b>319</b>	<b>100%</b>

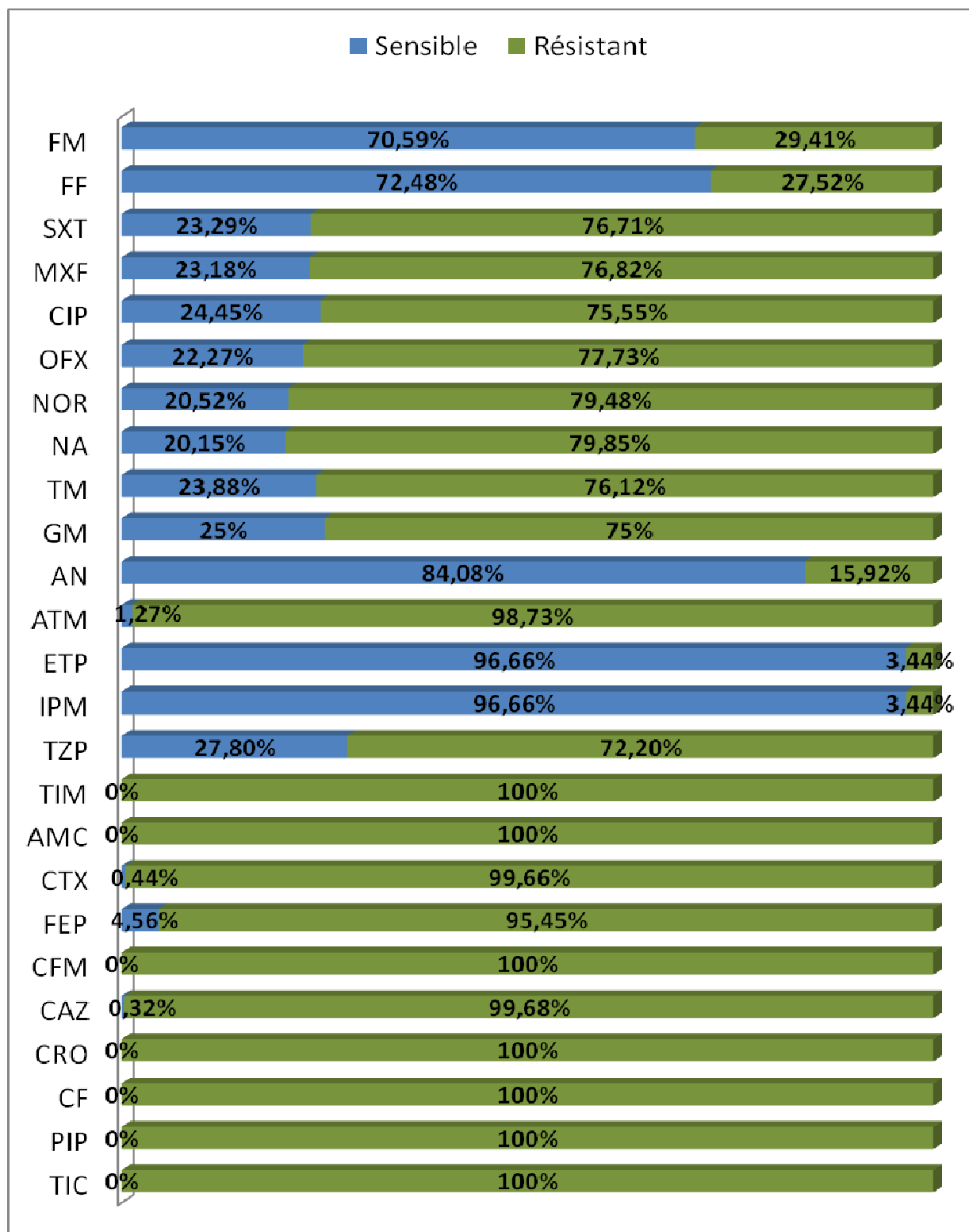


**Figure 19** : Répartition des souches des BLSE selon les germes isolés.

### III.8. Profil de résistance des BLSE aux Antibiotiques :

**Tableau XV : Profil de résistance des BLSE aux Antibiotiques.**

Antibiotiques	Sensible		Résistant		Non Testés
	Nombre	Fréquence	Nombre	Fréquence	Nombre
TIC	0	0%	265	100%	54
PIP	0	0%	264	100%	55
CF	0	0%	318	100%	1
CRO	0	0%	282	100%	37
CAZ	1	0,32%	317	99,68%	1
CFM	0	0%	197	100%	122
FEP	11	4,56%	231	95,45%	77
CTX	1	0,44%	296	99,66%	22
AMC	0	0%	319	100%	0
TIM	0	0%	185	100%	134
TZP	67	27,80%	174	72,20%	78
IPM	308	96,66%	11	3,44%	0
ETP	308	96,66%	11	3,44%	0
ATM	4	1,27%	313	98,73%	2
AN	264	84,08%	50	15,92%	5
GM	80	25%	239	75%	0
TM	69	23,88%	220	76,12%	30
NA	54	20,15%	214	79,85%	51
NOR	64	20,52%	248	79,48%	7
OFX	55	22,27%	192	77,73%	72
CIP	77	24,45%	238	75,55%	4
MXF	54	23,18%	179	76,82%	86
SXT	68	23,29%	224	76,71%	27
FF	79	72,48%	30	27,52%	210
FM	60	70,59%	25	29,41%	234

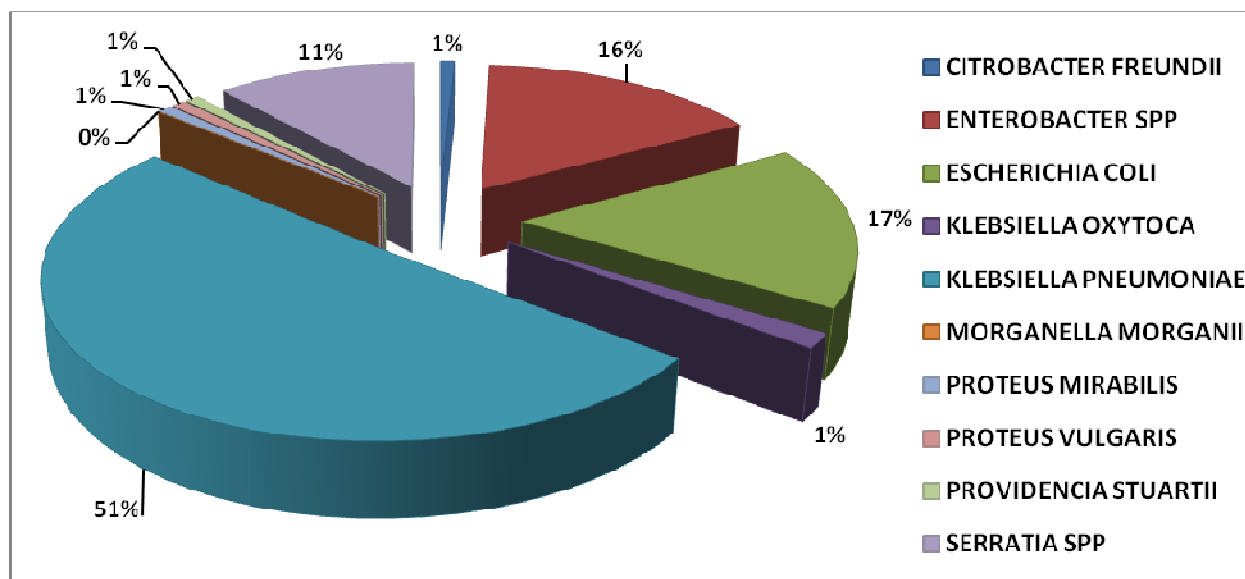


**Figure 20 : Profil de résistance des BLSE aux Antibiotiques.**

### III.9. Répartition des BLSE au service de réanimation :

**Tableau XVI** : Répartition des BLSE au service de réanimation.

Germes isolés au service de réanimation	Nombre	Fréquence
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1%
<i>Enterobacter spp</i>	21	16%
<i>Escherichia coli</i>	22	17%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	2%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	66	51%
<i>Morganella morganii</i>	0	0%
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1%
<i>Providencia stuartii</i>	1	1%
<i>Serratia spp</i>	15	12%
<b>Total</b>	<b>130</b>	<b>100%</b>



**Figure 21** : Répartition des BLSE au service de réanimation.

## **IV-Discussion :**

### **IV.1. Épidémiologie des Entérobactéries productrices de BLSE :**

Les bactéries productrices de BLSE constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multirésistance aux antibiotiques. Les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés. <sup>[10]</sup>

#### **IV.1.1. Prévalence d'isolement des EBLSE par rapport aux entérobactéries :**

Le groupe KES représenté par *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp* et *Serratia spp* semble être le producteur potentiel de BLSE, avec une prévalence de 34% ,31% et 43% respectivement.

Nous avons noté que le taux de *K. pneumoniae* BLSE était significativement plus élevé comparé aux résultats rapportés en Algérie en 2008 avec une prévalence de 19,9 %. <sup>[128]</sup> Mais cette prévalence reste proche de celui rapporté aux hôpitaux du Sud de l'Europe (25 %) <sup>[129]</sup> et beaucoup plus bas que les taux pour l'Amérique du Sud (55 %). <sup>[130]</sup>

La fréquence de production des BLSE pour les souches d'*E. Cloacae* et de *S. marcescens* varie d'un pays à l'autre. Ces souches étaient beaucoup plus fréquentes dans notre institution que dans des données publiées pour des pays comme la Corée, l'Iran et Taïwan. <sup>[131,132]</sup> L'abus de C3G pourrait en partie expliquer le haut pourcentage de BLSE au Maroc.

La plupart des souches du groupe KES BLSE diagnostiquées dont le monde est de type CTX-M, c'est le cas pour CTX-M-9 et CTX-M-14 en Espagne, CTX-M-1 en Italie, ou CTX-M-2 en Amérique du Sud et le Japon, tandis que CTX-M-15 est distribué dans le monde entier. <sup>[133, 134,135]</sup>

Très peu d'études de la diffusion des déterminants génétiques de la résistance plasmidique de ces souches ont été réalisées à ce jour dans les pays africains.

Dans une étude réalisée en 2011 par S. Nedjai et al. en Algérie montre que des souches de *Serratia marcescens* étaient toutes productrices de CTX-M-1 et que deux souches parmi eux ont acquis TEM supplémentaire ce qui suggère une diffusion clonale en raison des plasmides. <sup>[136]</sup>

Depuis sa première description en 1951 comme un agent d'infection nosocomiale, *S. marcescens* était très fréquemment impliqué dans des épidémies nosocomiales. <sup>[137]</sup> La source de contamination était toujours un réservoir environnemental (antiseptiques, solutions stériles, matériel médical et chirurgical). Sa transmission est faite par le contact direct avec la muqueuse, par le personnel de soins de santé des mains salies et des dispositifs médicaux, mais il n'y avait aucune transmission directe d'une personne à l'autre. <sup>[136]</sup>

La diffusion clonale des *Enterobacter cloacae* dont les unités de soins intensifs oblige un isolement géographique et technique des patients infectés ou colonisés par ces bactéries multirésistantes. <sup>[136]</sup>

*K. pneumoniae* est un agent typique et majeur d'infections nosocomiales avec un haut potentiel épidémique, particulièrement pour les souches productrices de BLSE. <sup>[136]</sup> La diffusion clonale de ces souches exige le

renforcement du combat contre les bactéries multi-résistantes dans notre institution : en examinant et identifiant les patients colonisés ou infectés, le traitement des patients infectés et la mise en œuvre d'isolement géographique, particulièrement pour des patients qui ont été transférés aux unités de soins intensifs.

#### **IV.1.2.Répartition des souches des E-BLSE selon les services d'origine :**

Les souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées au cours de notre étude, sont issues majoritairement des services de réanimation avec un pourcentage de 32,75%. En effet, les patients hospitalisés au sein des unités de soins intensifs présentent plus de risques à contracter une BLSE <sup>[138]</sup>, vu la durée d'hospitalisation (qui est généralement longue), la sévérité de la maladie, l'usage d'un certain nombre de dispositifs invasifs (sondes urinaires, cathéters, ventilation, intubation...), et les traitements antibiotiques multiples notamment avec les céphalosporines à large spectre. <sup>[1,138]</sup>

En réanimation, *K. pneumoniae* était prédominante au sein des BLSE. <sup>[139]</sup> La prévalence des entérobactéries sécrétrices de « BLSE » est actuellement croissante en milieu communautaire et hospitalier notamment en réanimation.

Si une infection à EBLSE semble être corrélée à une augmentation de la mortalité en réanimation, l'impact de l'acquisition d'une simple colonisation, en termes de mortalité ou de morbidité, est lui moins connu. <sup>[140]</sup>

Cependant il ne faut pas négliger l'augmentation des EBLSE dans le service de chirurgie (21,36%) suite à l'emploi de l'antibioprophylaxie chirurgicale. Il existe un consensus pour tenter d'éradiquer les colonisations

urinaires chez les patients devant subir une chirurgie urologique, ou des exploitations invasives de l'appareil urinaire. Il est de règle de le proposer également lors de la mise en place d'une prothèse ostéoarticulaire, endovasculaire ou valvulaire cardiaque.<sup>[141]</sup>

#### **IV.1.3.Répartition des souches des EBLSE selon la nature des prélèvements :**

Notre étude a démontré que la majorité des souches isolées, dont le nombre est de 319 à partir de 298 patients hospitalisés et 21 patients externes, proviennent dans près de ½ des cas des urines (48%) , suivis par les prélèvements respiratoires (14 %) puis l'hémoculture (11 %) et les prélèvements de pus (9%).

Dans la présente étude, le tractus urinaire est à l'origine de 48% des entérobactéries productrices de BLSE isolées. Ceci confirme les résultats apportés par une étude menée en 1999 dans un hôpital universitaire à Paris par Lucet et al. et dans laquelle les infections du tractus urinaire à entérobactéries productrices de BLSE représentaient 52%.<sup>[3]</sup> Les principaux facteurs de risque de colonisation, puis d'infections urinaires nosocomiales, sont la dépendance fonctionnelle et surtout la mise en place d'une sonde urinaire, qui doit être posée suite à une indication précise, puis retirée le plus rapidement possible. Le respect de ces indications à côté de la mise en place de mesures d'isolements et la mise en œuvre de consignes d'hygiène, ont permis, d'après une étude menée dans un service de médecine interne gériatrique, de diminuer de 52% l'incidence des infections à entérobactéries productrices de BLSE au CHU d'Amiens.<sup>[142]</sup>

Jusqu'à présent, la plupart des études épidémiologiques concernant les entérobactéries productrices de BLSE se sont intéressées à l'infection plutôt qu'à la colonisation par ce type de germes. Pourtant, la compréhension des facteurs de risque de colonisation digestive par les entérobactéries productrices de BLSE est d'une importance vitale pour plusieurs raisons : Tout d'abord, le tube digestif a été reconnu comme réservoir et source majeure d'entérobactéries à BLSE chez les patients colonisés. <sup>[10]</sup> Et puis, la colonisation a été reconnue comme un élément précédent l'infection. <sup>[143]</sup>

Donc, le contrôle et l'élimination des réservoirs constitués par les patients colonisés, permettraient de diminuer la prévalence des infections à BLSE.

#### **IV.1.4.Répartition des souches des E-BLSE selon le sexe :**

Les hommes sont plus disposés à l'infection aux EBLSE (21,50%) que les femmes (15,98%) (**Fig.18**).Guillet M et al. et d'autres auteurs rapportent que le sexe masculin et le transfert à partir d'une structure hospitalière de long séjour constituent deux facteurs de risque significativement associés au portage de BLSE. <sup>[144]</sup>

#### **IV.1.5.Répartition des souches des E-BLSE selon les germes isolés :**

*Klebsiella pneumoniae* constitue la majorité des BLSE (45%), suivie d'*E. Coli* (26%), et d'*Enterobacter spp* (15%).

Selon Hirakata Y et al. <sup>[145]</sup>, la prévalence de BLSE chez *Klebsiella spp* en Nouvelle-Zélande semble être similaire à celle de l'Australie, des États-Unis et certains pays européens. Alors que les taux les plus élevés sont retrouvés en Chine, à Hong-kong, aux Philippines et à Singapour.

En 2001 en France, *K. pneumoniae* représentait 3% des micro-organismes isolés d'infections nosocomiales. Des épidémies hospitalières de souches résistantes aux C3G par production de BLSE sont observées depuis le milieu des années 1980 dans de nombreux pays; les souches classiques de *K. pneumoniae* productrices de BLSE sont encore sensibles à l'imipénème.

Cependant, durant l'année 2004, une souche de *K. pneumoniae* résistante à toutes les bêta-lactamines, y compris l'imipénème, a été isolée chez 6 patients d'un service de chirurgie en région parisienne. <sup>[146]</sup>

Il faut, cependant, noter que certaines études détrônent *K. pneumoniae* de la place qu'elle occupait, et placent *E. aerogenes* au 1<sup>er</sup> rang des entérobactéries productrices de BLSE. <sup>[147, 138, 2]</sup> Ce phénomène a été observé en France, aux USA et en Espagne. <sup>[147]</sup>

#### **IV.1.6. Répartition des souches des E-BLSE selon les mois d'isolement :**

Sur la période étudiée, le profil des patients porteurs ou atteints d'infections à EBLSE s'est modifié, on est ainsi passé d'un patient majoritairement infecté et ayant acquis le germe dans la structure hospitalière à un patient colonisé ayant importé les souches. Cette émergence de souches EBLSE a été décrite, cela va de paire avec la prédominance de souches isolées à partir d'infections urinaires reliées au portage urinaire. <sup>[148]</sup> D'autres auteurs s'inquiètent pour la fréquence croissante des BLSE chez des consultants et suggèrent que cela serait dû probablement au fait que ces patients ont déjà transités dans des services où il y avait une forte prescription des antibiotiques. <sup>[149]</sup>

Le taux d'infection EBLSE est élevé en Juin et en Mai (**Fig. 15**). La compréhension des raisons de cette évolution passe nécessairement par une analyse épidémiologique et génotypique affinée. En revanche, on note une diminution du taux d'infection en juillet et cela est peut être dû à la diminution de l'activité du laboratoire (période des vacances).

#### **IV.2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques :**

Face à l'apparition de nouvelles résistances aux antibiotiques chez les entérobactéries, l'évaluation de la sensibilité vis à vis de ces antibiotiques est devenue indispensable.

Les souches isolées dans notre étude sont résistantes à toutes les bêta-lactamines utilisées (Ticarcilline, Pipéracilline, Céphalothine, Céftriaxone, Céfixime) avec un pourcentage de résistance de 100 %, cependant 11 souches d'EBLSE ont été révélées résistantes aux Carbapénèmes (Imipénème, Ertapénème) avec une sensibilité de 96,66%.

Or le pourcentage de souches d'entérobactéries productrices de BLSE catégorisées « S » au céfotaxime est de 0,44 %, à la céftazidime de 0,32 %, au céfépime de 4,56 % et à l'aztréonam de 1,27%. Presque les mêmes résultats sont obtenus selon les données colligées par l'ONERBA lors d'une étude réalisée en 2012 dont le but est de tenter de circonscrire les paramètres nécessaires au succès thérapeutique des C3G ou AZT en cas d'infections à EBLSE.<sup>[138]</sup>

En effet jusqu'à 2011, du fait d'une lecture interprétative de l'antibiogramme, les C3G et l'AZT ne faisaient jamais partie des  $\beta$ -lactamines potentiellement disponibles pour le traitement des infections invasives à entérobactéries productrices de BLSE, alors que maintenant il est possible de les

utiliser. Cette nouveauté intervient dans une conjoncture où, étant donné l'émergence récente des souches résistantes aux carbapénèmes, il est fortement encouragé, voire recommandé, d'éviter l'usage massif des carbapénèmes, molécules qui avant 2011 étaient en première ligne pour le traitement des infections sévères à entérobactéries productrices de BLSE. <sup>[150]</sup>

Il est à noter que l'augmentation du nombre d'E-BLSE a entraîné l'utilisation abusive des carbapénèmes dans de nombreux pays, avec pour conséquence l'émergence de la résistance à ces antibiotiques, notamment chez *K. pneumoniae* <sup>[151]</sup> (Dans notre étude 8 souches de *k.pneumoniae* et 3 d'*E.cloacae* ont été révélées résistantes aux carbapénèmes).

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est due principalement à la production de métallo-bêtalactamase ou de bêtalactamase de classe A (KPC, GES, etc.). <sup>[151]</sup>

La première métallo-bêtalactamase de type Veronese imipenemase (VIM) fut décrite en 1999 à partir d'une souche clinique de *Pseudomonas aeruginosa* isolée d'une plaie chez un patient de Vérone en Italie. La lactamase VIM s'est disséminée aux entérobactéries et de nombreuses épidémies de souches ont été rapportées notamment en Asie et en Europe du sud. <sup>[151]</sup>

Ainsi, en Grèce, la proportion de *K. pneumoniae* résistante aux carbapénèmes (VIM-1) a significativement progressé ces dernières années et son émergence en France devient préoccupante. <sup>[151]</sup>

Au Maroc le premier cas de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase de type oxacillinase (OXA) a été rapporté en 2010. <sup>[152]</sup>

Ces souches productrices des « BLSE » associent d'autres résistances et particulièrement aux Fluoroquinolones (Ciprofloxacin 75,55%, Norfloxacin 79,48%, Ofloxacin 77,73%, Moxifloxacin 76,82%) ainsi qu'à l'association Sulfaméthoxazol-Triméthoprime (23,29%).

La sensibilité aux Aminosides particulièrement à l'Amikacine semble être préservée (84,08%), contrairement à celle de la Gentamicine (25%) et de la Tobramycine (23,88%), ce qui justifie son utilisation comme traitement empirique.

Le taux de ces co-résistances a été confirmé par Arpin et al. qui avaient une sensibilité intermédiaire ou résistance à l'ofloxacin dans 86 % des cas, une résistance à la gentamicine dans 29 %, à l'amikacine dans 51 % et au cotrimoxazole dans 86 %. Ben-Ami et al. dans leur revue de la littérature, avaient un taux de résistance à la ciprofloxacin de plus de 70 %. En revanche, il confirmait des résistances différentes en fonction des pays : de 10 % en Espagne pour les aminosides, de 36,5 % au Canada à 77,6 % en Espagne pour le cotrimoxazole. <sup>[153]</sup>

Le problème lié aux BLSE est surtout la présence fréquente de co-résistances aux aminosides et quinolones, rendant les souches multirésistantes. Des gènes de résistances à différentes familles d'antibiotiques sont décrits comme présents sur un même plasmide, représentant ainsi un mode de diffusion efficace de plusieurs mécanismes simultanément. La diffusion de ces résistances pourrait aussi être le fait d'intégrons souvent décrits chez les CTX-M. <sup>[154]</sup>

Parmi les co-résistances connues on observait au niveau des aminosides un phénotype TNA (aac (6')). Il apparaît selon nos résultats mais aussi dans

d'autres études que l'amikacine est moins touchée que la gentamicine et la tobramicine. <sup>[155, 156, 157]</sup> Cette sensibilité aux aminosides selon les résultats de Morosini <sup>[156]</sup> semble varier en fonction du type de BLSE. Les résistances à l'amikacine et la gentamicine sont respectivement pour CTX-M9 (6,3 % - 20,6%), CTXM14 (0 %-4,4 %), SHV (2,3 %-26,1 %), TEM (35,5 %-71,1 %).

La résistance aux quinolones est très souvent présente chez les E-BLSE. Des études menées dans différents pays concluent que les souches CTX-M14, CTX-M15 sont plus en relation avec une résistance à la ciprofloxacine que les autres BLSE. <sup>[158,159]</sup> La diminution de sensibilité à cette classe d'antibiotique peut être due soit à une mutation chromosomique (*gyr A*, *parC*), un mécanisme d'efflux, une imperméabilité, un plasmide (protéine type *qnr*), une enzyme (*aac (6')-Ib-cr*).

Dans cette étude la colistine a conservé une excellente activité antimicrobienne contre les organismes producteurs de BLSE avec une sensibilité de 100% sauf pour l'espèce *serratia* où il a une résistance naturelle (résultat non mentionné dans le **Tab. XV**). Toutefois, leur utilisation clinique pour le traitement de ces infections reste rare, car elles sont généralement réservées au traitement des infections causées par des BGN plus résistantes. <sup>[160]</sup>

La fosfomycine présente une bonne activité antimicrobienne contre les EBLSE (sensibilité de 72,48%). Ce résultat a été confirmé par une étude récente qui a révélé la grande efficacité de la fosfomycine dans le traitement des IU basse communautaires à *E. coli* producteurs de BLSE, ainsi que la valeur potentielle de ce médicament dans le traitement des infections systémiques. <sup>[160]</sup>

En ce qui concerne la nitrofurantoïne, elle est également efficace dans le traitement des IU basses simples à BLSE (sensibilité de 70,59%), mais cela pourrait être limité par le développement d'une co-résistance à cet agent par les organismes producteurs de BLSE. <sup>[160]</sup>

**Tableau XVII : Comparaison des taux de résistance des E-BLSE aux  $\beta$ -lactamines dans différentes études.**

Étude	E-BLSE	AMX	AMC	C1G	C2G	C3G	IPM	AZT
Bénin (2005) A.T.Ahoyo et al. <sup>[161]</sup>	<i>E. coli</i>	100%	97,5%	64%	-	94%	5%	80%
Tunisie (2009) A.Ben Haj Khalifa et al. <sup>[162]</sup>	<i>Klebsiella spp.</i>	-	100%	-	-	100%	0%	-
Maroc (2008) (El jadida) H. Nadmi et al. <sup>[163]</sup>	<i>E. coli</i>	61,2%	13,7%	-	6,2%	1,25%	0%	1,2%
	<i>Klebsiella spp.</i>	100%	30,7%	-	23%	0%	0%	0%
	<i>E.cloacae</i>	100%	33,3%	-	33,3%	0%	0%	0%
France (2009) (Paris) C.Doit et al. <sup>[164]</sup>	<i>E. coli</i>	60,6%	26,8%	-	-	3,9%	-	-
France (2005) (Nîmes) A.Mahamat et al. <sup>[165]</sup>	<i>Proteus mirabilis</i>	55,0%	35,7%	-	-	6,1%	1,7%	-
Algérie (2009) S. Nedjai et al. <sup>[166]</sup>	Groupe KES	-	-	-	47,6%	-	-	-
Maroc (2008) (Meknès) I.Lahlou Amine et al. <sup>[167]</sup>	EB	85%	72,5%	86,5%	53%	17,08%	-	-
Côte d'Ivoire (2006) N. Guessend et al. <sup>[168]</sup>	EB	-	-	-	56,1%	79,67%	0%	-
Notre étude (2012) (Rabat)	EB	-	100%	100%	-	98,96%	3,44%	98,73%

Tableau XVIII : Comparaison des co-résistances des E-BLSE dans différentes études.

Étude	E-BLSE	AN	GM	TM	NA	NOR	CIP	SXT	FF	FM
Bénin (2005) A.T.Ahoyo et al. [161]	<i>E. coli</i>	-	74%	-	69%	-	48%	92%	-	-
Tunisie (2009) A. Ben Haj Khalifa et al. [162]	<i>Klebsiella spp.</i>	10%	92,5%	-	80%	-	67,5%	72,5%	17,5%	52,5%
Maroc (2008) (El jadida) H. Nadmi et al. [163]	<i>E. coli</i>	0%	8,7%	13,7%	26,5%	-	20%	33,7%	-	-
	<i>Klebsiella spp.</i>	0%	0%	0%	7,6%	-	0%	46,1%	-	-
	<i>E.cloacae</i>	0%	0%	16,6%	16,6%	-	16,6%	50%	-	-
France (2009) (Paris) C. Doit et al. [164]	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	3,9%	-	-	-
France (2005) (Nîmes) A. Mahamat et al. [165]	<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	34,7%	28,6%	26,5%	-	-
Algérie (2009) S. Nedjai et al. [166]	Groupe KES	47,7%	81%	-	80%	-	15,3%	92,3%	35,3%	-
Maroc (2008) (Meknès) I.Lahlou Amine et al. [167]	EB	12%	32,5%	-	50%	-	38%	62,5%	-	47,5%
Côte d'Ivoire (2006) N. Guessend et al. [168]	EB	56,1%	75,6%	95,1%	95,1%	-	-	97,6%	4,9%	-
Notre étude (2012) (Rabat)	EB	15,92%	75%	76,12%	79,85 %	79,48 %	75,55%	76,71%	27,52%	29,41%

### IV.3.Traitement et prévention :

#### IV.3.1.Prévention de l'acquisition des E-BLSE en milieu hospitalier et dépistage actif :

Le dépistage actif des patients porteurs d'EBLSE est aujourd'hui recommandé dans les services à forte incidence de colonisation comme la réanimation et pour les patients ayant des facteurs de risque d'acquisition. <sup>[169]</sup> Ces dépistages ont pour but d'identifier les patients porteurs afin de limiter la diffusion des EBLSE en milieu hospitalier par transmission croisée. <sup>[169]</sup> Les mesures d'hygiène (utilisation de solutions hydro-alcooliques, isolement, groupement des patients) n'ont pas permis de contrôler la diffusion et le risque de l'épidémie. Pourtant, ces mesures permettent de limiter la transmission croisée des EBLSE. Ainsi, pour exemple, une étude en réanimation a montré que l'occupation d'une chambre par un patient porteur d'une EBLSE n'était pas un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE pour le prochain occupant de la chambre. <sup>[170]</sup>

Le principal facteur d'échec de ces mesures visant à limiter la transmission croisée est probablement lié au réservoir des EBLSE. <sup>[171]</sup> Ces dernières sont trouvées actuellement dans l'environnement (par exemple dans la nourriture <sup>[172]</sup> et chez les animaux de compagnie <sup>[173]</sup>) ou chez des sujets sains en milieu communautaire. <sup>[174]</sup>

D'autant plus, une forte proportion de sujets colonisés par des EBLSE n'a été remarquée chez les membres de la famille des patients porteurs en communauté. <sup>[175]</sup> En milieu hospitalier, une étude trouvait également une proportion non négligeable de colonisation à *E. coli* BLSE parmi le personnel

servant les repas aux patients. <sup>[176]</sup> Enfin il y a peu de données actuelles sur la durée de la colonisation par des EBLSE. Une étude a montré que 68 % des patients restaient colonisés après une période médiane de 56 jours. <sup>[177]</sup> Une autre étude retrouvait à trois ans, 6,8 % de patients colonisés. <sup>[178]</sup>

#### **IV.3.2. Alternatives thérapeutiques pour les infections à E-BLSE :**

Les BLSE hydrolysent les pénicillines, les céphalosporines (à l'exception des céphamycines), et l'aztréonam, <sup>[179]</sup> mais le degré d'activité hydrolytique contre ces substrats peut différer considérablement d'un type de BLSE à un autre. En règle générale, les BLSE de type TEM et SHV ont une plus grande activité hydrolytique vis-à-vis de la céftazidime et du céfotaxime, à la différence de la CTX-M. <sup>[180,179]</sup> Par conséquent, les producteurs de BLSE peuvent paraître sensibles in vitro à certains des agents ci-dessus. Le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommande que *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* et *Proteus mirabilis* producteurs de BLSE soient déclarés comme résistants aux pénicillines, ainsi qu'aux céphalosporines et à l'aztréonam, quelle que soit la sensibilité in vitro.

In vitro le niveau de résistance aux  $\beta$ -lactamines /I $\beta$ L conféré par les BLSE est variable. <sup>[179]</sup> Des CMI significatives peuvent se trouver dans l'intervalle de sensibilité.

Il a été également retrouvé un effet inoculum concernant la sensibilité in vitro d'isolats producteurs de BLSE vis-à-vis d'agents hydrolysés par les BLSE incluant les  $\beta$ -lactamines /I $\beta$ L. Toutefois, la pertinence clinique de ce phénomène n'a pas été fermement établie, il peut en effet s'agir d'un artefact du laboratoire. <sup>[181]</sup>

Un facteur important limite l'éventail des antibiotiques actifs contre les entérobactéries productrices de BLSE : c'est la plus fréquente co-expression de résistance de ces bactéries à des classes d'antibiotiques autres que ceux hydrolysés par les BLSE. Ceci a été démontré pour les FQ, les aminosides, les tétracyclines (à l'exception des glycylicyclines), et le triméthoprim /sulfaméthoxazole. <sup>[182]</sup>

### **a-Céphalosporines :**

Relativement peu de travaux ont évalué cliniquement l'efficacité des céphalosporines dans le traitement des infections causées par des bactéries productrices de BLSE. Dans un petit essai clinique pertinent, les taux de réussite clinique étaient similaires chez sept patients présentant une bactériémie à *E. coli* productrice de CTX-M traités par céftazidime contre huit de ces patients traités par imipénème / cilastatine (86% contre 88%, respectivement). <sup>[183]</sup> De même, une étude rétrospective n'a pas trouvé de différences significatives dans les résultats cliniques de 44 patients hospitalisés aux soins intensifs ayant une infection à *Enterobacter aerogenes* productrice de TEM-24 traités par céfépime par rapport à un traitement par carbapénèmes. <sup>[184]</sup> Toutefois, le résultat microbiologique était inférieur dans le groupe céfépime. En outre, dans le cadre d'un essai clinique randomisé portant sur des patients atteints d'une pneumonie nosocomiale, le traitement par céfépime s'est associé à de moins bon résultats comparé à l'imipénème / cilastatine utilisée chez le sous groupe de patients infectés par des germes producteurs de BLSE. <sup>[185]</sup>

D'autres études, de moindre envergure, ont rapporté une faible efficacité des céphalosporines dans le traitement des EBLSE, même si in vitro l'activité

antimicrobienne est démontrée. <sup>[186,187]</sup> Ainsi, la plupart des experts s'opposent à l'utilisation des céphalosporines comme traitement des infections à germes producteurs de BLSE.

### **b-Association $\beta$ -lactamine / I $\beta$ L :**

Le degré d'activité inhibitrice des I $\beta$ L contre l'hydrolyse des  $\beta$ -lactamines par les BLSE varie selon le type d'inhibiteur et le type de BLSE. À cet égard, le tazobactam a été jugé plus puissant comparé à l'acide clavulanique contre certaines BLSE de types CTX-M <sup>[188]</sup>, tandis qu'ils semblent tous les deux plus puissants que le sulbactam dans l'inhibition de la TEM et de la SHV. <sup>[189]</sup>

Les données cliniques disponibles concernant l'utilisation des associations  $\beta$ -lactamine/I $\beta$ L dans le traitement par pipéracilline/tazobactam a donné de bons résultats selon les études faites à petites échelles, même si ces résultats n'ont pas pu être systématiquement reproductibles. <sup>[190,191]</sup> Une étude de modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique a conclu que la probabilité d'atteindre l'objectif pharmacodynamique dans les infections à *E. coli* et *K. pneumoniae* BLSE est plus faible pour la pipéracilline / tazobactam que pour le céfépime quand des schémas posologiques conventionnels sont utilisés. <sup>[192]</sup> En outre, la résistance croissante des EBLSE à pipéracilline / tazobactam peut limiter l'utilisation thérapeutique potentielle de cette association. <sup>[190]</sup>

Enfin il convient d'indiquer que l'association amoxicilline /acide clavulanique peut avoir une forte activité antimicrobienne contre les entérobactéries isolées lors d'infections communautaires, et il peut constituer une option thérapeutique efficace dans les infections urinaires communautaires à EBLSE. <sup>[193,194]</sup>

### **c- Céphamycines :**

Les céphamycines, incluant principalement la céfoxitine, le céfotétan, et le céfmetazole, ne constituent pas, par définition, des substrats hydrolysés par les BLSE. Toutefois, la co-résistance à ces agents par les EBLSE peut être observée, principalement en raison de la perte d'une porine ou l'expression concomitante de  $\beta$ -lactamases AmpC. Les données cliniques concernant la valeur potentielle des céphamycines dans le traitement des infections à BLSE sont rares. Il existe notamment une étude qui a comparé le flomoxef et un carbapénème. Dans le traitement d'une bactériémie à *Klebsiella pneumoniae*, le résultat de cette étude a montré que la différence de mortalité entre les deux groupes de traitement n'était pas significative.

Toutefois, d'autres rapports ont noté l'émergence de la résistance aux céphamycines lors du traitement avec ces agents, ainsi qu'une co-résistance aux carbapénèmes. <sup>[179,195]</sup>

### **d- Carbapénèmes :**

Les carbapénèmes sont considérés comme le traitement de choix contre les infections graves à BLSE. <sup>[182]</sup> Ceci est dû principalement au fait qu'ils ne sont pas inactivés in vitro par ces enzymes, et qu'ils ont démontré une efficacité adéquate dans le traitement des infections graves à Gram négatif à différentes localisations.

Toutefois les données spécifiques à leur utilisation clinique dans les infections à BLSE sont assez limitées, bien qu'elles soient en général en faveur de leur efficacité. <sup>[185, 187, 191, 196]</sup> Une étude de cohorte prospective et multicentrique a évalué 85 cas de bactériémies à *K. pneumoniae* et a démontré que l'utilisation des carbapénèmes dans les cinq premiers jours de traitement

constitue à elle seule un facteur de faible mortalité.<sup>[197]</sup> En outre, un petit essai clinique évaluant l'utilisation de l'ertapénème pour le traitement de 20 patients atteints de pneumonies à EBLSE a conclu un taux de succès clinique de 80%.<sup>[198]</sup>

L'évolution des résistances chez les bacilles à Gram négatif fait craindre une augmentation de l'utilisation des carbapénèmes en raison de l'augmentation de l'incidence des infections par des souches résistantes aux C3G (en particulier les E-BLSE) et impose une prudence accrue dans l'utilisation des antibiotiques à large spectre tels que les carbapénèmes en raison de l'émergence et du risque de diffusion des mécanismes de résistances à ces antibiotiques (carbapéménases, etc.).<sup>[199]</sup>

Dans le but de limiter, autant que faire, la consommation des carbapénèmes et donc la pression de sélection exercée par ces antibiotiques sur les flores commensales, il est recommandé d'utiliser chaque fois que possible une des alternatives thérapeutiques pour le traitement des infections dues à des E-BLSE (notamment en cas d'infection urinaire, site le plus souvent concerné).<sup>[199]</sup>

Ces alternatives potentiellement utilisables, sous réserve de la vérification de la sensibilité des souches, incluent :<sup>[199]</sup>

- les associations pénicillines-inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases ;
- les céphamycines (céfoxitine) ;
- la fosfomycine ;
- les furanes (infections urinaires basses) ;
- la fosfomycine trométamol (infections urinaires basses) ;
- le cotrimoxazole (infections urinaires).

**e-Fluoroquinolones :**

Les organismes producteurs de BLSE peuvent avoir des déterminants de résistance qui leur confèrent un bas ou haut niveau de résistance aux FQ. Une potentielle résistance peut être rapportée quand ces agents sont utilisés comme traitement empirique d'infections à germes producteurs de BLSE. Il existe aussi certaines inquiétudes concernant l'efficacité des FQ dans le traitement d'infections graves à germes producteurs de BLSE sensibles aux FQ comparée à l'efficacité des carbapénèmes.

Les études qui ont fourni des données pertinentes, mais seulement pour un petit nombre de patients, sont résumées dans le **Tab. XIX.** <sup>[191, 196, 197, 200,201]</sup> En ce qui concerne les résultats des deux plus grandes études pertinentes, qui se sont toutes les deux intéressées aux bactériémies à *K. pneumoniae*, l'une a favorisé l'utilisation des carbapénèmes sur celle des FQ, tandis que l'autre conclue à une efficacité similaire avec ces deux classes d'antibiotiques. <sup>[197,201]</sup>

**Tableau XIX: Résultats cliniques chez des patients ayant des infections causées par les BLSE traités par FQ, Carbapénèmes, ou d'autres agents présentant une activité efficace in vitro.** <sup>[202]</sup>

Étude	Type d'étude	Caractéristiques des patients	résultats	Agents spécifiques		
				FQ	Carbapénèmes	Autres ATB
<b>Kim et al. (2002)</b>	Etude rétrospective de cohorte	Patient adulte ayant une bactériémie à <i>Klebsiella</i> BLSE	Décès	Ciprof <sup>a</sup> : 1/3	Imip: 2/12	Aminosides: 2/4
<b>Burgess et al. (2003)</b>	Etude rétrospective de cohorte	Cas d'infections par organismes producteurs de BLSE ( <i>E. coli</i> , <i>K.oxytoca</i> , <i>K.pneumoniae</i> )	Echec clinique	FQ <sup>a</sup> :0/3	Carb <sup>a</sup> :0/3	Pip/tazo : 1/3
<b>Endimiani et al. (2004)</b>	Etude rétrospective de cohorte	Bactériémie à <i>Klebsiella</i> productrice de TEM-52	Echec clinique	Ciprof <sup>a, b</sup> : 2/7	Carb <sup>a, b</sup> : 3/11	Aminosides : 0/2
<b>Kang et al. (2004)</b>	Etude rétrospective de cohorte	Bactériémie à <i>E.coli</i> BLSE ou <i>K.pneumoniae</i> BLSE	Décès après 30 jours	Ciprof <sup>c</sup> : 3/29	Carb <sup>c</sup> :8/62	Non rapporté
<b>Paterson et al. (2004)</b>	Etude prospective et multiconcentrique de cohorte	Infection à <i>K.pneumoniae</i> BLSE chez des patients âgés de plus de 6 ans	Décès	Ciprof <sup>a</sup> : 4/11	Carb <sup>a</sup> :1/27	Céphalo <sup>a</sup> : 2/5 β-lactame /IBL : 2/4

a : Thérapie représentant le seul agent microbiologiquement actif.

b : Patients ayant reçu un traitement de durée suffisante (>7j) et à dose adéquate.

c : Traitement définitif.

**f- Tigécycline :**

La tigécycline, un dérivé de la minocycline, est le premier membre de la classe des glycylicyclines à être disponible pour une utilisation clinique. Il a la propriété d'échapper à des mécanismes communs de résistance aux tétracyclines exprimés par les bactéries Gram négatif et Gram positif. <sup>[203]</sup> Selon une revue systématique de la littérature, il apparaît que la tigécycline possède une excellente activité contre les isolats d'*E. Coli* producteurs de BLSE. Elle a, en outre, montré une importante activité antimicrobienne contre *K. pneumoniae* productrice de BLSE bien que cela dépende des critères d'interprétation de la sensibilité choisis. Les données cliniques ainsi que celle concernant l'activité antimicrobienne de la tigécycline sur d'autres EBLSE sont limitées. <sup>[204]</sup>

En outre, la considération des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de cet agent laisse douter de sa potentielle efficacité dans le traitement de certaines infections spécifiques telles que les septicémies et les infections du tractus urinaire. <sup>[203]</sup> C'est ainsi que seule une fraction de 10 à 15% de la dose de tigécycline ingérée est excrétée sous forme active dans les urines. Les concentrations sériques de tigécycline peuvent également être insuffisantes pour obtenir une activité antimicrobienne efficace avec une CMI proche du seuil de sensibilité.

**g- Aminoglycosides :** <sup>[205]</sup>

Les aminosides constituent un traitement efficace contre les organismes producteurs de BLSE, à condition que l'organisme ait une CMI sensiblement inférieur au seuil de sensibilité.

**h- Perspectives :** <sup>[202]</sup>

La réévaluation des antibiotiques utilisés plutôt, et qui ont eu une faible utilisation clinique au cours des dernières décennies, pour combattre ces micro-organismes résistants peut fournir une solution temporaire au problème de diffusion de l'antibiorésistance. Les agents qui peuvent être utiles pour le traitement des infections à BLSE incluent les polymyxines, la fosfomycine, la nitrofurantoïne et la témocilline. En outre, en combinant les céphalosporines disponibles avec des IβL on pourrait améliorer leur efficacité contre les infections à BLSE.



D'après les résultats de notre étude et les données de la littérature, il apparaît clairement que les E-BLSE prennent une place de plus en plus importante parmi les bactéries multirésistantes, leur diffusion a été élargie dans le monde depuis leurs premières mises en évidence en 1983.

Devant cette situation alarmante et vu le risque accru d'échec thérapeutique engendré par ces souches multirésistantes responsables d'infections nosocomiales ou communautaires, le laboratoire de Microbiologie doit jouer un rôle sentinelle dans la surveillance et la prévention.

Dans le cadre de mesures destinées à limiter l'apparition d'épidémies intra-hospitalières dues à ces souches d'entérobactéries productrices de BLSE, il convient de procéder à :

- Un dépistage précoce des infections à germes BLSE ;
- Un contrôle des réservoirs et des voies de transmission par isolement géographique et technique des patients colonisés ou infectés ;
- Un bon usage des antibiotiques ;
- Une prise de conscience collective, une coopération de tous les services et une formation approfondie des équipes soignantes afin de diminuer au maximum les risques de transmission croisée.

# *Résumés*



## **RESUME**

**Titre** : Profil épidémiologique des entérobactéries sécrétrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi diagnostiquées au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Rabat.

**Auteur** : Laila FOULAL

**Mots-clés** : Entérobactéries, Antibiotiques, Résistance, BLSE, Épidémiologie.

Les entérobactéries productrices des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) constituent un problème majeur de santé public en raison de leur fréquence d'isolement et leur gravité en termes de morbidité et de mortalité.

**But** : Etude de l'épidémiologie et du profil de résistance aux antibiotiques de ces bactéries productrices de BLSE.

**Matériel et méthode** : Il s'agit d'une étude prospective réalisée au sein du laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Ibn Sina de Rabat, et portant sur 319 souches d'entérobactéries sécrétrices de BLSE isolées de divers prélèvements provenant des différents services. L'étude a été conduite du 1<sup>er</sup> Janvier au 31 Juillet 2012.

**Résultats** : La prévalence globale des BLSE au sein de l'ensemble des entérobactéries isolées (1721 souches) est de 18%. Le tractus urinaire constitue le principal réservoir avec une fréquence de 48%, suivi par les prélèvements respiratoires, l'hémoculture et les prélèvements de pus avec respectivement 14%, 11% et 9%. Les espèces bactériennes les plus concernées par ce mécanisme de résistance sont essentiellement *Serratia spp* (43%) suivie par *Klebsiella pneumoniae* (34 %) et *Enterobacter spp* (31%). Les aminoglycosides gardent une bonne activité avec une supériorité pour l'amikacine (84,08 %). La résistance aux céphalosporines est la plus courante (céphalothine 100%, céftazidime 99,68 %) ainsi que les fluoroquinolones (ciprofloxacine 75,55%), cependant 11 souches d'EBLSE ont été révélées résistantes à l'imipénème avec une sensibilité de 96,66 %.

**Conclusion** : L'émergence des BLSE dans notre structure hospitalière constitue un réel problème. Les mesures de prévention et de surveillance de la diffusion de ces bactéries multi-résistantes doivent être prises au sérieux par les équipes soignantes en collaboration avec le laboratoire de bactériologie.

## **SUMMARY**

**Title:** Epidemiological Profile of the secretory enterobacteriaceae of  $\beta$ -lactamases in widened spectrum diagnosed within the laboratory of microbiology of the university hospital of Rabat.

**Author:** Laila FOULAL

**Keywords:** Enterobacteriaceae, Antibiotics, Resistance, BLSE, Epidemiology.

The producing enterobacteriaceae of beta-lactamases with spectrum widened (BLSE) constitutes a major public problem of health because of their frequency of isolation and their gravity in terms of morbidity and mortality.

**Purpose:** Study of the epidemiology and the profile of resistance to antibiotics of these producing bacteria of BLSE.

**Material and method:** it is about a cohort study realized within the laboratory of Bacteriology of the Hospital Ibn Sina of Rabat, and concerning 319 tree stumps of secretory enterobacteriaceae of isolated BLSE diverse takings resulting from various services. The study was led from January 1<sup>st</sup> till July 31<sup>st</sup> 2012.

**Results:** The overall prevalence of ESBL in all enterobacteria isolated (1721 strains) was 18%. The urinary tract constitutes the main reservoir with a 48 % frequency, followed by respiratory specimens, blood cultures and pus samples with 14%, 11% and 9%. Bacterial species most affected by this resistance mechanism are essentially *Serratia spp* (43%) followed by *Klebsiella pneumoniae* (34%) and *Enterobacter spp* (31%). Aminoglycosides keep a good business with superiority for amikacin (84.08%). Cephalosporin resistance is the most common (100% cephalothin, ceftazidime 99.68%) and fluoroquinolones (ciprofloxacin 75.55%), however 11 strains of EBLSE were revealed resistant in the imipénème with a 96, 66 % sensibility.

**Conclusion:** The emergence of the BLSE in our hospital structure establishes a real problem. Measures of prevention and surveillance of the distribution of these multi-resistant bacteria must be seriously taken by the medical teams in association with the laboratory of bacteriology.

## ملخص

**العنوان :** الملف الوبائي للأمعائيات المنتجة للبتالكتماز المديدة الطيف المشخصة بمختبر علم الأحياء الدقيقة بالمستشفى المركزي الجامعي بالرباط.

**الكاتبة :** ليلي فولال

**كلمات البحث :** الأمعائيات، المضادات الحيوية، المقاومة، ESBL، علم الأوبئة.

تعد الأمعائيات المنتجة للبتالكتماز المديدة الطيف من أهم مشاكل الصحة العمومية بسبب تردد عزلهم وتفاقم معدلات الاعتلال والوفيات.

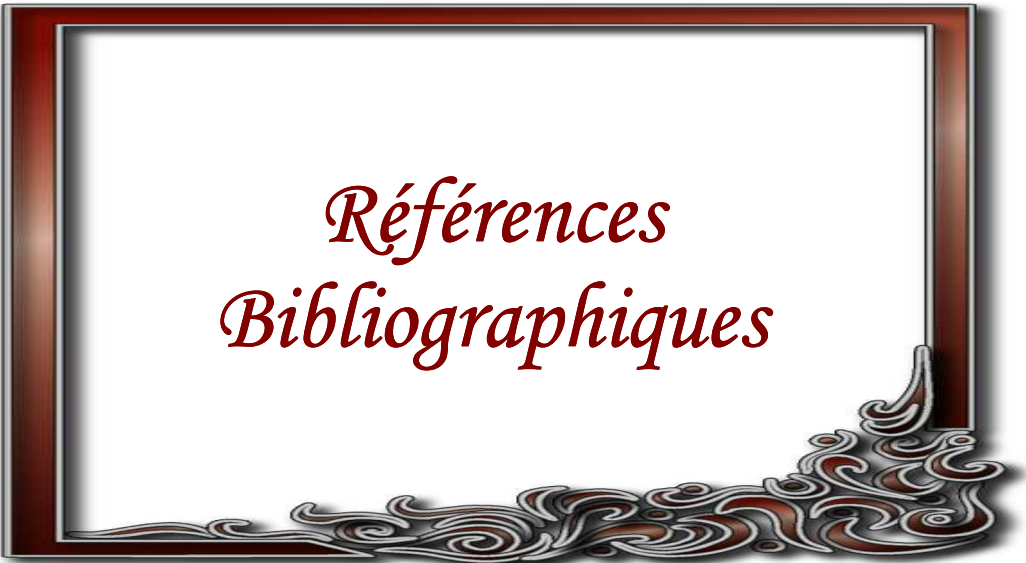
**الغرض:** دراسة وبائيات و المقاومة الشخصية للبكتيريا المنتجة للبتالكتماز المديدة الطيف تجاه المضادات الحيوية.

**المواد والأساليب :** يتعلق الأمر بدراسة استطلاعية بمختبر علم الجراثيم بمستشفى ابن سينا بالرباط الجارية على 319 سلالة من الأمعائيات المنتجة للبتالكتماز المديدة الطيف المعزولة من عينات مختلفة والآتية من مختلف الخدمات. وقد أجريت الدراسة في الفترة من 1 يناير إلى 31 يوليو 2012.

**النتائج :** إن معدل انتشار ال ESBL المعزولة في جميع الأمعائيات (1721 سلالة) هي 18% . المسالك البولية هي الخزان الرئيسي مع تردد من 48%. تليها عينات الجهاز التنفسي ، الدم والقيح مع 14% ، 11% و 9% على التوالي. الأنواع البكتيرية الأكثر تضررا من هذه الآلية المقاومة هي أساسا السراتية (43%) تليها الرئوية (34%) ثم الانتروبكتيريا

(31%) . (الأمينوغليكوزيد يحافظ على نشاط جيد مع التفوق للأميكاسين (84.08%) إن مقاومة السيفالوسبورين هي الأكثر شيوعا (سيفالوتين 100%، السيفتازيديم 99.68%) والفلوروكينولونات (السيبروفلوكساسين 75.55%)، ومع ذلك، تم الكشف عن 11 سلالة من ESBL المقاومة للإمبيديم مع حساسية 96.66%.

**خاتمة:** إن ظهور ال BLSE في هيكل مستشفىنا هو مشكل حقيقي ، و ينبغي اتخاذ تدابير وقائية ورصد انتشار هاته البكتيريا المقاومة بجدية من قبل الطاقم الطبي بالتعاون مع مختبر علم الجراثيم.



*Références  
Bibliographiques*

- [1] **Ang J. Y, Ezike E, Asmar BL;** Antibacterial résistance; Indian J. Pediatr. 2004 ; 71 : 229-239.
- [2] **Moragny J ;** Surveillance épidémiologique des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au sein du CHU de Besançon de janvier 2000 à décembre 2001.
- [3] **Lucet J.C, Regnier B;** Control of prolonged outbreak of extended - spectrum beta- lactamases- producing Enterobacteriaceae in a university hospital; Clinical infectious diseases, 1999; 29: 1411-8.
- [4] **Bradford PA.** Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14(4):933-51.
- [5] **M. Fouquet, V. Morange, F. Bruyère ;** Évolution sur cinq ans des infections à germes produisant une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu ; Progrès en urologie (2012) 22, 17-21.
- [6] **Quinteros M, Radice M, Gardella N, Rodrigez M, Costa N, Korbenfeld D, Conto E, Gutkind G, and the microbiology study group;** Exstended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in Buenos aires, argentina, public hospitals; Antimicrobial agents and chemotherapy, sept 2003 ; p : 2864- 2867.
- [7] **Neu H.C ;** Définition et classification des bêta-lactamases. ; Med. Mal. Infect, 1998 (hors série): 7-10.

- [8] **Neuch Inderbinen M.T., Kayser F.H. and Hachler H.** Survey and molecular genetics of SHV beta-lactamases in Enterobacteriaceae in Switzerland: Two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. *Antimicrob. Agents and Chemother.* , 1997, 41(5):943-949.
- [9] **Bradford P. A.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21th century: Characterization, Epidemiology and detection of this important résistance threat. *Clinical microbiology reviews*, Oct 2001.p: 933.
- [10] **Gniadkowski M.** Evolution and epidemiology of extended spectrum beta-lactamases and ESBL producing micro-organisms. *Clin. Microbial infect.* , 2001; 7: 557 -608.
- [11] **Bru JP.** AntibioGARDE. Guide d'antibiothérapie hospitalière. Bois-Colombes: Association des Auteurs d'AntibioGARDE.
- [12] **Carniel E.** *Yersinia pestis*. In: Paris: Éditions ESKA; (Ed.) : 2000; 1157.
- [13] **Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Winokur PL, Gales AC, et al.** Survey of bloodstream infections due to gram-negative bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, and Latin America for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 595-607.
- [14] **Farmer JJ 3rd, Davis BR, Hickmanbrenner FW, McWhorter A, Huntley-Carter GP, Asbury MA , et al.** Biochemical identification of

new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol 1985 ; 21 : 46-76.

- [15] **Freney J, Renaud FN, Hansen W, Bollet C.** Précis de bactériologie clinique. Paris: éditions Eska.
- [16] **Le Minor L, Richard C.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Paris: Institut Pasteur.
- [17] **Reynaud A, Joly B.** Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. Paris: Lavoisier.
- [18] **Richard C.** À propos de la définition des Enterobacteriaceae. Tech Biol 1994; 4: 96-103.
- [19] **Truant AL.** Manual of commercial methods in clinical microbiology. Washington: ASM Press.
- [20] **Wladimir Sougakoff, David Trystram.** Résistances aux  $\beta$ -lactamines Service de Bactériologie-Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière 18 février 2003.
- [21] **E.Garrabé, J.D.Cavallo, R.Fabre, F.Jehl, C.Rapp ;** Bêtalactamines ; Encyclopédie Médico-Chirurgicale 8-0040C-10 (2004).
- [22] **Freney J, Renaud F, Hansen W, Boillet C.** Précis de bactériologie clinique. Paris: ESKA Alexandre Lacassagne, 2000; 557-569.
- [23] **Livermore DM.**  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 557-584.

- [24] **Livermore D, Williams JD.**  $\beta$ -lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance. In: Lorian V, ed. *Antibiotics in laboratory medicine*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996; 502-578.
- [25] **Charrel RN, Pagès JM, De Micco et al.** Prevalence of outer membrane porin alteration in  $\beta$ -lactam-antibiotic-resistant *Enterobacter aerogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2854-2858.
- [26] **Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T.** Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3322-3327.
- [27] **Nikaido H.** Antibiotic resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis* 1998; 27 suppl1: 32S-41S.
- [28] **Ambler RP.** The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philos Trans R Soc London Ser B* 1980; 289: 321-331.
- [29] **Mazzariol A, Cornaglia G, Nikaido H.** Contribution of the Amp-C  $\beta$ -lactamase and the AcrAB multidrug efflux system in intrinsic resistance of *E. coli* K12 to  $\beta$ -lactams. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1387-1390.
- [30] **Nikaido H, Basina M, Nguyen V, Rosenberg EY.** Multidrug efflux pumps AcrAB of *Salmonella typhimurium* excretes only those  $\beta$ -lactam antibiotics containing lipophilic side chains. *J Bacteriol* 1998; 180: 4686-4692.

- [31] **Malouin F, Bryan LE.** Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 1-5.
- [32] **Oppenheim BA.** Antibiotic resistance in *Neisseria meningitidis*. *Clin Infect Dis* 1997; 24 suppl1: S98-S101.
- [33] **Quinn JP, Di Vincenzo CA, Lucks DA, Luskin RL, Shatzer KL, Lerner SA.** Serious infections due to penicillin-resistant strains of viridans streptococci with altered penicillin-binding-proteins. *J Infect Dis* 1988; 157: 764-769.
- [34] **Antignac A, Kriz P, Tzanakaki G, Alonso JM, Taha MK.** Polymorphism of *Neisseria meningitidis* penA gene associated with reduced susceptibility to penicillin. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 285-296.
- [35] **Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T.** Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol* 2002; 292: 67-74.
- [36] **Mendelmann PM, Chaffin D, Kalaizoglou G.** Penicillin-binding proteins and ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother* 1990; 25: 525-534.
- [37] **Nagai K, Davies TA, Jacobs MR, Appelbaum PC.** Effects of amino acid alterations in penicillin-binding-proteins (PBPs) 1a, 2b, and 2x on PBP affinities of penicillin, amoxicillin, cefditoren, cefuroxime, cefprozil and cefaclor in 18 clinical isolates of penicillin-susceptible, -intermediate and

resistant pneumococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1273-1280.

- [38] **Rybkin T, Mainardi JL, Sougakoff W, Collatz E, Gutmann L.** Penicillin-binding protein 5 sequence alterations in clinical isolates of *Enterococcus faecium* with different levels of  $\beta$ -lactam resistance. *J Infect Dis* 1998; 178: 159-163.
- [39] **Frédéric robin, Lucie Gibold, Richard Bonnet ;** résistances naturelles et acquises aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ; *Revue francophone des laboratoires*-septembre-octobre 2012-N°445.
- [40] **A. Philippon, G. Arlet ;** Entérobactéries et bêta-lactamines : phénotypes de résistance naturelle ; *Pathologie Biologie* 60 (2012) 112–126.
- [41] **Samir Vora, Raymond Auckenthaler.** Que signifie « bêtalactamases à spectre élargi » en pratique. *Rev Med Suisse* 2009; 5:1991-1994.
- [42] **Bush K, Jacoby GA, Meideros AA.** A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamase and its correlation with molecular structures. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1211-1233.
- [43] **Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM.** Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:144-153.

- [44] **Gniadkowski M.** Evolution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:11-32.
- [45] **Bonnet R.** Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:1-14.
- [46] **Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, and Woodford N.** CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:165-74.
- [47] **Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(Suppl. 1):33-41.
- [48] **Cantón R, Coque TM.** The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9:466-75.
- [49] **Jacoby GA, Munoz-Price LS.** The new  $\beta$ -lactamases. *N Engl J Med* 2005; 352:380-91.
- [50] **Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P.** Ambler class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:2385-92.
- [51] **Naas T, Poirel L, Nordmann P.** Minor extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:42-52.

- [52] **Livermore DM.** Defining an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:3-10 *Pathologie infectieuse en réanimation* 209.
- [53] **Reinert RR, Low DE, Rossi F, Zhang X, Wattal C, Dowzicky MJ.** Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim. Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(5):1018–29.
- [54] **Bell JM, Turnidge JD, Gales AC, Pfaller MA, Jones RN.** Prevalence of extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998–1999). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 42:193-8.
- [55] **Gagliotti C, Balode A, Baquero F, Degener J, Grundmann H, Gur D, et al.** Escherichia coli and Staphylococcus aureus: bad news and good news from the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, formerly EARSS), 2002 to 2009. *Euro Surveill* 2011; 16(11).
- [56] **Ruppe E, Woerther PL, Diop A, Sene AM, Da Costa A, Arlet G, et al.** Carriage of CTX-M-15-producing Escherichia coli isolates among children living in a remote village in Senegal. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:3135-7.

- [57] **Woerther PL, Angebault C, Lescat M, Ruppe E, Skurnik D, Mniai AE, et al.** Emergence and dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the community: lessons from the study of a remote and controlled population. *J Infect Dis* 2010; 202(4):515–23.
- [58] **Luvsansharav UO, Hirai I, Niki M, Nakata A, Yoshinaga A, Moriyama T, et al.** Prevalence of fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae among healthy adult people in Japan. *J Infect Chemother* 2011; 17(5):722–5.
- [59] **Luvsansharav UO, Hirai I, Niki M, Sasaki T, Makimoto K, Komalamisra C, et al.** Analysis of risk factors for a high prevalence of extended-spectrum Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in asymptomatic individuals in rural Thailand. *J Med Microbiol* 2011; 60(Pt. 5):619–24.
- [60] **Kader AA, Kumar A, Kamath KA.** Fecal carriage of extended-spectrum betalactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28(9):1114–6.
- [61] **Janvier F, Merens A, Delaune D, Soler C, Cavallo JD.** Fecal carriage of third generation cephalosporins resistant Enterobacteriaceae in asymptomatic young adults: evolution between 1999 and 2009. *Pathol Biol* 2011; 59(2): 97–101.

- [62] **Andriatahina T, Randrianirina F, Hariniana ER, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, et al.** High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum betalactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. *BMC Infect Dis* 2010; 10:204.
- [63] **Tande D, Jallot N, Bougoudogo F, Montagnon T, Gouriou S, Sizun J.** Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a Malian orphanage. *Emerging Infect Dis* 2009; 15(3):472–4.
- [64] **Doi Y, Adams-Haduch JM, Shivannavar CT, Paterson DL, Gaddad SM.** Faecal carriage of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with acute gastroenteritis. *Indian J Med Res* 2009; 129(5):599–602.
- [65] **Lo WU, Ho PL, Chow KH, Lai EL, Yeung F, Chiu SS.** Fecal carriage of CTX-M type extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms by children and their household contacts. *J Infect* 2009; 60(4):286–92.
- [66] **Harris AD, Nemoy L, Johnson JA, Martin-Carnahan A, Smith DL, Standiford H, et al.** Co-carriage rates of vancomycin-resistant *Enterococcus* and extendedspectrum beta-lactamase-producing bacteria among a cohort of intensive care unit patients: implications for an active surveillance program. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25(2):105–8.
- [67] **Castillo Garcia FJ, Seral Garcia C, Pardos De la Gandara M, Millan Lou MI, Pitart Ferre C.** Prevalence of fecal carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in hospitalized and ambulatory patients

during two non-outbreak periods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26(1):77–8.

- [68] **Arnan M, Gudiol C, Calatayud L, Linares J, Dominguez MA, Batlle M, et al.** Risk factors for, and clinical relevance of, faecal extended-spectrum -lactamase producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) carriage in neutropenic patients with haematological malignancies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30(3): 355–60.
- [69] **Tham J, Odenholt I, Walder M, Brolund A, Ahl J, Melander E.** Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in patients with travellers' diarrhoea. *Scand J Infect Dis* 2010; 42(4):275–80.
- [70] **Rooney PJ, O'Leary MC, Loughrey AC, McCalmont M, Smyth B, Donaghy P, et al.** Nursing homes as a reservoir of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)- producing ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64(3):635–41.
- [71] **Valverde A, Coque TM, Sanchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Canton R.** Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum betalactamase- producing *Enterobacteriaceae* during non outbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol* 2004; 42(10):4769–75.
- [72] **Vodovar D, et al.** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *Rev Med Interne* (2012).

- [73] **Laupland KB, Church DL, Vidakovich J, Mucenski M, Pitout JDD.** Community-onset extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*: importance of international travel. *J Infect* 2008; 57(6):441–8.
- [74] **Pitout JDD, Laupland KB.** Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008;8(3):159–66.
- [75] **Ruppe E, Pitsch A, Tubach F, de Lastours V, Chau F, Pasquet B, et al.** Clinical predictive values of extended-spectrum beta-lactamase carriage in patients admitted to medical wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 31(3):319–25.
- [76] **Schwaber MJ, Carmeli Y.** Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(5):913–20.
- [77] **Qureshi ZA, Paterson DL, Pakstis DL, Adams-Haduch JM, Sandkovsky G, Sordillo E, et al.** Risk factors and outcome of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(1):26–32.
- [78] **Kola A, Maciejewski O, Sohr D, Ziesing S, Gastmeier P.** Clinical impact of infections caused by ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae*. *Scand J Infect Dis* 2007; 39(11–12):975–82.

- [79] **Yang YS, Ku CH, Lin JC, Shang ST, Chiu CH, Yeh KM, et al.** Impact of extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* on the outcome of community-onset bacteremic urinary tract infections. *J Microbiol Immunol Infect* 2010;43(3):194–9.
- [80] Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé. Dix ans d'évolution des consommations d'antibiotiques en France; 2009.
- [81] European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009; 2009.
- [82] **ECDC/EMA Joint Working Group.** The bacterial challenge: time to react: a call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents; 2009.
- [83] **Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé.** Emergence des bactéries multi-résistantes - Importance renforcée du bon usage des antibiotiques; 2011.
- [84] **Bradford PA.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 933-51.
- [85] **Livermore DM.**  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-84.
- [86] **Thomson KS.** Controversies about extended- spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 333-6.

- [87] **Sturenburg E, Mack D.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. *J Hosp Infect* 2003; 47: 273-95
- [88] **A. Dubouix, N. Marty.** Détection des enterobacteries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu par biologie moléculaire avantages, limites. *Antibiotiques* 2004 ; 6 : 193-201.
- [89] **Tzouvelekis LS, Bonomo RA.** SHV-type  $\beta$ lactamases. *Curr Pharm Res* 1999; 5: 847- 64.
- [90] **Jacoby GA, Sutton L.** Properties of plasmids responsible for production of extended- spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 164-9.
- [91] **Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Tassios PT, et al.** CTX-M-type  $\beta$ -lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14: 137-43.
- [92] **Poirel L, Kampfer P, Nordmann P.** Chromosome-encoded Ambler class A beta-lactamase in *Klyuvera georgiana*, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended- spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 4038-40.
- [93] **Saladin M, Cao Bao VT, Lambert T, et al.** Diversity of CTX-M  $\beta$ -lactamases and their promoter regions from *Enterobacteriaceae* isolated in three Parisian hospitals. *FEMS Microbiol Lett* 2002; 209: 161-8.

- [94] **Bush K, Macalintal C, Rasmussen BA, et al.** Kinetic interactions of tazobactam with beta-lactamases from all major structural classes. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 851-8.
- [95] **Randegger CC, Keller A, Irla M, et al.** Contribution of the amino acid substitutions in SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases to resistance against various  $\beta$ lactams. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2759-63.
- [96] **Tenover FC, Raney PM, Williams PP, et al.** Project ICARE. Evaluation of the NCCLS extended-spectrum beta-lactamase confirmation methods for *Escherichia coli* with isolates collection during Project ICARE. *J Clin Microbiol* 2003 ; 41 : 3142-6.
- [97] **Pangon B, Bizet C, Bure A, et al.** In vivo selection of a cephamycin-resistant, porindeficient mutant of *Klebsiella pneumonia* producing a TEM-3 beta-lactamase. *J Infect Dis* 1989 ; 159 : 1005-6.
- [98] **Mackenzie FM, Forbes KJ, Dorai-John T, et al.** Emergence of a carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 1997; 350: 783.
- [99] **Casellas JM, Golberg M.** Incidence of strains producing extended-spectrum  $\beta$ lactamases in Argentina. *Infection* 1989; 17: 434-6.
- [100] **Jacoby GA, Medeiros AA.** More extended spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697-704.

- [101] **Spencer RC, Wheat PF, Winstanley TG, et al.** Novel  $\beta$ -lactamases in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* conferring unusual resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemoter* 1987 ; 20 : 919-21.
- [102] **Rice LB, Yao JDC, Klimm K, et al.** Efficacy of different  $\beta$ -lactams against an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the rat intra-abdominal abscess model. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1243-44.
- [103] **Arlet G, Philippon A.** Construction by polymerase chain reaction and intragenic DNA probes for three main types of transferable  $\beta$ -lactamases (TEM, SHV, CARB). *FEMS Microbiol Lett* 1991; 82: 19-26.
- [104] **Huovinen S, Huovinen P, Jacoby GA.** Detection of plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases with DNA probes. *Antimicrob Agents Chemother* 1988 ; 32 : 175-9.
- [105] **Ouelette M, Paul GC, Philippon AM, et al.** Oligonucleotide probes (TEM-1, OXA-1) versus isoelectrofocusing in  $\beta$ -lactamases characterization of 114 resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32: 397-9.
- [106] **Mabilat C, Courvalin P.** Development of "oligotyping" for characterization and molecular epidemiology of TEM  $\beta$ -lactamases in members of the family of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 2210-6.

- [107] **Tham TN, Mabilat C, Courvalin P, et al.** Biotinylated oligonucleotides probes for the detection and characterization of TEM-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiol Lett* 1990; 69: 109-16.
- [108] **Courvalin P.** Phenotypic approach to the study of bacterial resistance to antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1019-23.
- [109] **Nuesch-Inderbinen MT, Hachler Hkh.** Detection of genes coding for extended spectrum SHV beta-lactamases in clinical isolates by a molecular genetics method, and comparison with the E-test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 398-402.
- [110] **Chanawong A, M'zali Fh, Heritage J, et al.** Characterization of the extended spectrum  $\beta$ -lactamases of the SHV family using a combination of PCR-single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) and PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *FEMS Microbiol Lett* 2000; 184: 85-9.
- [111] **M'zali FH, Gascoyne-Binzi DM, Heritage J, et al.** Detection of mutations conferring extended-spectrum activity on SHV  $\beta$ -lactamases using polymerase chain reaction single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP). *J Antimicrob Chemother* 1996; 37: 797-802.
- [112] **Arlet G, Brami G, Decrere D, et al.** Molecular characterization by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM  $\beta$ -lactamases. *FEMS Microbiol Lett* 1995; 134: 1498-1500.

- [113] **Bedenic B, Randegger C, Boras A, et al.** Comparison of five different methods for detection of SHV extended-spectrum betalactamases. *J Chemother* 2001; 13: 24-33.
- [114] **Chanawong A, M'zali Fh, Heritage J, et al.** Discrimination of SHV  $\beta$ -lactamases genes by restriction site insertion-PCR. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2110-4.
- [115] **M'zali FH, Heritage J, Gascoyne-Binzi, et al.** PCR single strand conformational polymorphism can be used to detect the gene encoding SHV-7 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and to identify different SHV genes within the same strain. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 123-5.
- [116] **Kim J, Lee HJ.** Rapid discriminatory detection of genes coding for SHV  $\beta$ -lactamase by ligase chain reaction. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2000; 44: 1860-4.
- [117] **Randegger CC, Hachler H.** Real-time PCR and melting curve analysis for reliable and rapid detection of SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2001; 45: 1730-6.
- [118] **Bradford PA.** Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of *blashv* genes. *Antimicrobiol Agents Chemother* 1999; 43: 2960-3.
- [119] **Howard C, Van Daal A, Kelly G, et al.** Identification and minisequencing-based discrimination of SHV  $\beta$ -lactamases in

nosocomial infection-associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2002; 46: 659-64.

[120] **Chiang FT, Hsu KL, Tseng CD, et al.** Molecular variant M235T of the angiotensinogen gene is associated with essential hypertension in Taiwanese. *J Hypertens* 1997 ; 15 : 607-11.

[121] **Jalanko A, Kere J, Savilhati E, et al.** Screening for defined cystic fibrosis mutations by solid-phase minisequencing. *Clin Chem* 1992 ; 38 : 39-43.

[122] **Mariotti C, Saverse N, Suomalainen A, et al.** Genotype to phenotype correlations in mitochondrial encephalomyopathies associated with the A3243G mutation of mitochondrial DNA. *J Neurol* 1995; 242: 304- 12.

[123] **Samir Vora, Raymond Auckenthaler.** Que signifie « bêta-lactamases à spectre élargi » en pratique. *Rev Med Suisse* 2009;5:1991-1994.

[124] **Pr. C. J-Soussy ;** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ; Recommandations 2011.

[125] **Jean-Marie Adam ;** Le point sur l'antibiogramme au laboratoire de bactériologie médicale ; *Revue Francophone des Laboratoires*, septembre-octobre 2005, N ° 375.p51.

[126] **M. BERRA ;** étude épidémiologique et méthodes de détection de souches d'entérobactéries productrices de BLSE au CHU Ibn Rochd de Casablanca ; Thèse de pharmacie ; *Université Cheikh Anta Diop de Dakar*, 2005, N° 28.

- [127] **L. Arsalane, Y. Qamouss, A. Chafik, M. Boughalem, L. Louzi;** Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009 ; Les Technologies De Laboratoire - 2010, Volume 5, N°21.
- [128] **Messai Y, Iabadene H, Benhassine T, Alouache S, Tazir M, Gautier V, et al.** Prevalence and characterisation of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). Pathol Biol 2008; 56:319–25.
- [129] **Babini GS, Livemore DM.** Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp collected from intensive care units in southern and western Europe in 1997–1998. J Antimicrob Chemother 2000; 45(2):183–9.
- [130] **Gales AC, Sader HS, Jones RN, SENTRY.** Urinary tract infection trends in latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997–2000). Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44:289–99.
- [131] **Park YJ, Park SY, Oh EJ, Park JJ, Lee KY, Woo GJ, et al.** Occurrence of extended-spectrum betalactamases among chromosomal AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens* in Korea and investigation of screening criteria. Diag Microbiol Infections Dis 2005; 51:265–9.
- [132] **Ramazanzadeh R, Chitsaz M, Bahmani N.** Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended spectrum beta-lactamase-

producing bacteria in intensive care units of Sanandaj general hospitals (Kurdistan, Iran). *Chemotherapy* 2009; 55:287–92.

[133] **Canton R, Coque TM.** The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9(5):466–75.

[134] **Canton R, Novais A, Valvedre A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al.** Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(Suppl. 1):144–53.

[135] **Rossolini GM, D'Andrea MM, mugnioli C.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(Suppl.1): 3341.

[136] **S. Nedjai et al ;** Prévalence et caractérisation des bêtalactamases à spectre élargi chez les bactéries du groupe Klebsiella-Enterobacter-Serratia en Algérie ; *Médecine et maladies infectieuses* 42 (2012) 20–29.

[137] **Hejazi A, Falkiner FR.** *Serratia marcescens*. *J Med Microbiol* 1997; 46:903–12.

[138] **A. Lefort, M. Nicolas-Chanoine ;** Les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et les céphalosporines de troisième génération en 2012 ; *Journal des Anti-infectieux* (2012) 14, 51-57.

- [139] **Camusa T, Civya A-M, Donniob P-Y, et al.** Impact de l'acquisition d'une colonisation à entérobactéries sécrétrices de BLSE en réanimation. Sessions posters. Réanimation 2010 ; 19S, SP045.
- [140] **Brocasa E, Cornaza B, Cormierb P, Choukrounc G, Malbrunotd C, et al.** Prévalence de la colonisation par bactéries multirésistantes (BMR) à l'admission dans le service de réanimation d'un hôpital général non universitaire .Reanimation 2010 ; 19S, SP042.
- [141] Conférence de consensus. Infections nosocomiale de l'adulte, texte long. Med Mal Infect 2003 ; 33 :223S-244S.
- [142] **Kaltenbach G, Heitz D, vogel T, Nobel M, Martin-Huny, ADI M, Kuntzmann F.** Prevalence of wide spectrum beta-lactamase producing enterobacterial urinary infection medicine. Presse med, 2002: 31:1213-17.
- [143] **Bisson G, Fishman no, Baldus Patel J, Edelstein P. H, Lautenbach E.** Extended-spectrum beta-lactamase producing Esherichia coli and Klebsiella species: Risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary intervention on colonization prevalence. Infection control and hospital epidemiology. May, 2002; 23: 4, p. 254-260.
- [144] **Leotard S, Negrin N.** Epidémiologie des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (E-BLSE) au centre hospitalier de Grasse (2005-2008). Path Biol 2010 ; 58 :35-8.

- [145] **Hirakata Y, Mustapha J, Miyazaki Y et al.** Regional variation in the prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagnostic Microbiology and Infections Disease* 2005;52:323-9.
- [146] **Jarlier V, Carbonne A, Astagneau P, Coignard B.** Cas groupés d'infections à *Klebsiella pneumoniae* résistantes à toutes les bêta-lactamines y compris à l'imipénème en région parisienne. *Edition InVS*, 2003, p. 84.
- [147] **Lavigne J. P, Bonziges N, Chanale C, Mahamal A, Michaux-charachon S, and Sotto A.** Molecular epidemiology of *Enterobacteriaceae* isolates producing Extended-spectrum beta-lactamases in a french hospital. *J. of clin. Microbiology*, august 2004; 42: 8, p. 3805-3808.
- [148] **Canton R, Novais A, Valverde A et al.** Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Journal complication* 2008. *Eur Soc Clin Microbiol Infect* 2008; 14(1):144-53.
- [149] **Woerther PL, Angebault C, Lescat M, Ruppe E, Skurnik D, Mniai AE, et al.** Emergence and dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the community: lessons from the study of a remote and controlled population. *J Infect Dis* 2010; 202(4):515-23.

- [151] **K. Chevet et al** ; Détection phénotypique d'une carbapénémase associée à une bêtalactamase à spectre élargi chez *Klebsiella pneumoniae* ; Médecine et maladies infectieuses 42 (2012) 33–35
- [152] **Benouda A, Touzani O, Khairallah MT, Araj GF, Matar GM**; First detection of oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* from Morocco; Annals of Tropical Medicine & Parasitology. Vol.000,2010;1-4
- [153] **M. Fouquet, V. Morange, F. Bruyère** ; Évolution sur cinq ans des infections à germes produisant une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu ; Progrès en urologie (2012) 22, 17-21.
- [154] **Nseir S, Blazejewski C, Lubret R, Wallet F, Courcol R, Durocher A.** Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. Clin Microbiol Infect 2011; 17(8):1201–8.
- [155] **Nicolas-Chanoine MH, Jarlier V.** La Collégiale de bactériologie-virologie hygiène hospitalière de l'Assistance publique–Hôpitaux de Paris, France. Extended-spectrum beta-lactamases in long-term-care facilities. Clin Microbiol Infect 2008; 14(Suppl. 1):111–6.
- [156] **Morosini MA, Garcia-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E, et al.** Antibiotic coresistance in Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity of Tigecycline. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(8):2695–9.

- [157] **Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Carmeli Y.** High levels of antimicrobial coresistance among extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(5):2137–9.
- [158] **Lagacé-Wiens PRS, Nichol KA, Nicolle LE, DeCorby M, McCracken M, Alfa MJ, et al.** ESBL genotypes in fluoroquinolone-resistant and fluoroquinolone -susceptible ESBL-producing *Escherichia coli* urinary isolates in Manitoba. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2007; 18(2):133–7.
- [159] **Valverde A, Coque TM, Sanchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Canton R.** Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4769–75
- [160] **Falagas, D.E. Karageorgopoulos** .Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms. *Journal of Hospital Infection* (2009) 73, 345e354.
- [161] **A.T. Ahoyo et al.** Incidence d'infections liées à *Escherichia coli* producteur de bêta lactamase à spectre élargi au Centre hospitalier départemental du Zou et Collines au Bénin ; *Médecine et maladies infectieuses* 37 (2007) 746–752
- [162] **A. Ben Haj Khalifa** ; Epidémiologie des souches de *Klebsiella* spp. uropathogènes productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien, 2009 ; *Pathologie Biologie* 60 (2012) e1–e5

- [163] **H. Nadmi et al** ; Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc) ; Médecine et maladies infectieuses 40 (2010) 303–305
- [164] **C. Doit, P. Mariani-Kurkdjian, E. Bingen** ; Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu ;
- [165] **A. Mahamat, J.-P. Lavigne, N. Bouziges, J.-P. Daurès, A. Sotto** ; Profils de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999 à 2005 au CHU de Nîmes ; Pathologie Biologie 54 (2006) 456–461
- [166] **Nedjai S, et al.** Prevalence and characterization of extended spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. Med Mal Infect (2011)
- [167] **I. Lahlou Amine, M. Chegri, H. L’Kassmi** ; Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires à l’hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès ; Antibiotiques (2009) 11, 90—96
- [168] **N. Guessennd et al** ; Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d’Ivoire ; Pathologie Biologie 56 (2008) 439–446
- [169] Haut conseil de la sante publique. Recommandations relatives aux mesures à mettre en oeuvre pour prevenir l’emergence des enterobacteries BLSE et lutter contre leur dissemination; 2010.

- [170] **Nseir S, Blazejewski C, Lubret R, Wallet F, Courcol R, Durocher A.** Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(8):1201–8.
- [171] **Gauzit R, Craig A, Brun-Buisson C, Jarlier V, Fantin B.** Recommandations de bon usage des carbapénèmes. *J Antiinf* 2010; 12: 183-9.
- [172] **Overdevest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, et al.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerging Infect Dis* 2011; 17(7):1216–22.
- [173] **Timofte D, Dandrieux J, Wattret A, Fick J, Williams NJ.** Detection of extended spectrum beta-lactamase-positive *Escherichia coli* in bile isolates from two dogs with bacterial cholangiohepatitis. *J Clin Microbiol* 2011; 49(9): 3411-4.
- [174] **Woerther PL, Angebault C, Lescat M, Ruppe E, Skurnik D, Mnai AE, et al.** Emergence and dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the community: lessons from the study of a remote and controlled population. *J Infect Dis* 2010; 202(4):515–23.
- [175] **Lo WU, Ho PL, Chow KH, Lai EL, Yeung F, Chiu SS.** Fecal carriage of CTX-M type extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms by children and their household contacts. *J Infect* 2009;60(4):286–92.

- [176] **Luo Y, Cui S, Li J, Yang J, Lin L, Hu C, et al.** Characterization of *Escherichia coli* isolates from healthy food handlers in hospital. *Microb Drug Resist* 2011; 17(3):443–8.
- [177] **Bellini C, Nahimana I, Senn L, Wenger P, Francioli P, Zanetti G.** Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase: duration of carriage and implication for surveillance. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Barcelona. 2008.
- [178] **Kola A, Holst M, Chaberny IF, Ziesing S, Suerbaum S, Gastmeier P.** Surveillance of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria and routine use of contact isolation: experience from a three-year period. *J Hosp Infect* 2007; 66(1):46–51.
- [179] **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657e686.
- [180] **Bonnet R.** Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:1e14.
- [181] **Pfaller MA, Segreti J.** Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum betalactamases. *Clin Infect Dis* 2006; 42(Suppl. 4):S153eS163.
- [182] **Pitout JD, Laupland KB.** Extended-spectrum beta-lactamase- producing Enterobacteriaceae: an emerging publichealth concern. *Lancet Infect Dis* 2008;8:159e166.

- [183] **Bin C, Hui W, Renyuan Z, et al.** Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 56:351e357.
- [184] **Goethaert K, Van Looveren M, Lammens C, et al.** High-dose cefepime as an alternative treatment for infections caused by TEM-24 ESBL-producing *Enterobacter aerogenes* in severely-ill patients. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:56e62.
- [185] **Zanetti G, Bally F, Greub G, et al.** Cefepime versus imipenem-cilastatin for treatment of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients: a multicenter, evaluator-blind, prospective, randomized study. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3442e3447.
- [186] **Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al.** Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2206e2212.
- [187] **Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M, et al.** Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *Clin Infect Dis* 2002; 34:135e146.

- [188] **Bush K, Macalintal C, Rasmussen BA, Lee VJ, Yang Y.** Kinetic interactions of tazobactam with beta-lactamases from all major structural classes. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:851e858.
- [189] **Payne DJ, Cramp R, Winstanley DJ, Knowles DJ.** Comparative activities of clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam against clinically important beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:767e772.
- [190] **Peterson LR.** Antibiotic policy and prescribing strategies for therapy of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: the role of piperacillin-tazobactam. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(Suppl. 1):181e184.
- [191] **Burgess DS, Hall 2nd RG, Lewis 2nd JS, Jorgensen JH, Patterson JE.** Clinical and microbiologic analysis of a hospital's extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period. *Pharmacotherapy* 2003; 23:1232e1237.
- [192] **Ambrose PG, Bhavnani SM, Jones RN.** Pharmacokinetics pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1643e1646.
- [193] **Rodriguez-Bano J, Alcalá JC, Cisneros JM, et al.** Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1897e1902.

- [194] **Falagas ME, Polemis M, Alexiou VG, Marini-Mastrogiannaki A, Kremastinou J, Vatopoulos AC.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* urinary isolates from primary care patients in Greece. *Med Sci Monit* 2008; 14: CR75eCR79.
- [195] **Lee CH, Chu C, Liu JW, Chen YS, Chiu CJ, Su LH.** Collateral damage of flomoxef therapy: in vivo development of porin deficiency and acquisition of blaDHA-1 leading to ertapenem resistance in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* producing CTX-M-3 and SHV-5 beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:410e413.
- [196] **Endimiani A, Luzzaro F, Perilli M, et al.** Bacteremia due to *Klebsiella pneumoniae* isolates producing the TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase: treatment outcome of patients receiving imipenem or ciprofloxacin. *Clin Infect Dis* 2004; 38:243e251.
- [197] **Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al.** Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis* 2004;39:31e37.
- [198] **Bassetti M, Righi E, Fasce R, et al.** Efficacy of ertapenem in the treatment of early ventilator-associated pneumonia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:433e435.
- [199] **R. Gauzit et al.** ; *Recommandations de bon usage des carbapénèmes ; Antibiotiques* (2010) 12, 183—189

- [200] **Kim BN, Woo JH, Kim MN, Ryu J, Kim YS.** Clinical implications of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Hosp Infect* 2002; 52:99e106.
- [201] **Kang CI, Kim SH, ParkWB, et al.** Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4574e4581.
- [202] **Falagas, D.E. Karageorgopoulos .**Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms. *Journal of Hospital Infection* (2009) 73, 345e354.
- [203] **Falagas ME, Karageorgopoulos DE, Dimopoulos G.** Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of tigecycline. *Curr Drug Metab* 2009; 10: 13e21.
- [204] **Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I, Falagas ME.** Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:895e904.

## *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 public, 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 la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne 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 méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

### قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

وأحس بالله العظيم

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 وبأداب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
  - أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
  - لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالالتزاماتي.
- "والله على ما أقول شهيد"

جامعة محمد الخامس - السويسي

كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 04

سنة : 2013

الملف الوبائي للأمعائيات المنتجة للبتالكتماز المدينة الطيف المشخصة بمختبر  
علم الأحياء الدقيقة بالمستشفى المركزي الجامعي بالرباط

## أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرفه

الآنسة: ليلي فولال

المزودة في 28 يناير 1986 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الأمعائيات- المضادات الحيوية- المقاومة -ESBL- علم الأوبئة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عمر شوقيري

أستاذ في علم الأنسجة والأجنة و تولد الخلايا

مشرف

السيد: ميمون الزوهدي

أستاذ في علم الجراثيم

السيدة: سكيبة الحمزاوي

أستاذة في علم الجراثيم

السيدة: سعيدة طلال

أعضاء

أستاذة في الكيمياء الإحيائية