

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

ANNEE: 2017

THESE N°: 06

DETECTION DES BACTERIES PRODUCTRICES
DE CARBAPENEMASES :
MISE AU POINT DU CARBA NP TEST
ET COMPARAISON AU TEST DE HODGE MODIFIE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr. Tokandji Rostand ADDA
Né le 12 Juin 1993 à Parakou (Bénin)

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Acinetobacter baumannii – Carba NP test – Carbapénémase – Entérobactérie –
Test de Hodge modifié.

JURY

| | | |
|--|---|------------|
| Mr. A. BAITE Professeur d'Anesthésie Réanimation | | PRESIDENT |
| Mr. A. LEMNOUER Professeur de Bactériologie | | RAPPORTEUR |
| Mr. M. EL OUENNASS Professeur de Bactériologie | } | JUGES |
| Mr. A. IBRAHIMI Professeur de Biotechnologie | | |
| Mr. H. TLIGUI Professeur de Parasitologie | | |
| Mr. M. FRIKH Professeur Assistant de Microbiologie | | INVITE |



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
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 Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz Médecine Interne – *Clinique Royale*
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan Médecine Interne
Pr. YAHYAOUI Mohamed Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib Chirurgie Pédiatrique
Pr. DAFIRI Rachida Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed Médecine Interne – *Doyen de la FMPR*

Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUHA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique **V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC**

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUHA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAFFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques **Doyen de la FMPA**
Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid



Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan

Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique



Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOUI ALI*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Décembre 2000

Pr. ZOHAI ABDELAH*

Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie

Obstétrique

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen de la FMP Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- **Dir. Hop. Av. Marr.**
Anesthésie-Réanimation **Inspecteur du SSM**
Anesthésie-Réanimation
Médecine



Interne

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie **Directeur Hop. Chekikh Zaied**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

ORL

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJILIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSE Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie



Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique

Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*

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

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Cardiologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie



Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*

Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

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



Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie

Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**

Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhousain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia

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

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie



Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*

Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie **Directeur Hôpital My Ismail**
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie générale

Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
0.
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation



Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

****Enseignants Militaires***



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Généologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Généologie-Obstétrique

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

*Enseignants Militaires



AOÛT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

| | |
|---------------------------------|--|
| Pr. ABOUDRAR Saadia | Physiologie |
| Pr. ALAMI OUHABI Naima | Biochimie – chimie |
| Pr. ALAOUI KATIM | Pharmacologie |
| Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma | Histologie-Embryologie |
| Pr. ANSAR M'hammed | Chimie Organique et Pharmacie Chimique |
| Pr. BOUHOUCHE Ahmed | Génétique Humaine |
| Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz | Applications Pharmaceutiques |
| Pr. BOURJOUANE Mohamed | Microbiologie |
| Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia | Biochimie – chimie |
| Pr. DAKKA Taoufiq | Physiologie |
| Pr. DRAOUI Mustapha | Chimie Analytique |
| Pr. EL GUESSABI Lahcen | Pharmacognosie |
| Pr. ETTAIB Abdelkader | Zootéchnie |
| Pr. FAOUZI Moulay El Abbas | Pharmacologie |
| Pr. HAMZAOUI Laila | Biophysique |
| Pr. HMAMOUCHE Mohamed | Chimie Organique |
| Pr. IBRAHIMI Azeddine | Biologie moléculaire |
| Pr. KHANFRI Jamal Eddine | Biologie |
| Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med | Chimie Organique |
| Pr. REDHA Ahlam | Chimie |
| Pr. TOUATI Driss | Pharmacognosie |
| Pr. ZAHIDI Ahmed | Pharmacologie |
| Pr. ZELLOU Amina | Chimie Organique |

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*





Dédicaces



A l'Éternel Dieu Tout Puissant,

*Merci pour le souffle de vie, la santé et toute la protection dont je
jouis depuis que j'existe.*

A ma famille,

En mémoire de ma sœur Sêwêto Hodermie ADDA

et de mon frère Kpêyéton Horem ADDA,

*La vie a voulu que vous ne soyez plus à mes côtés en ce jour, mais
votre départ loin de m'affaiblir m'a renforcé face aux épreuves de la
vie et m'a permis d'arriver à cette étape.*

Puisse l'Éternel Dieu tout puissant vous accorder le repos éternel.

*A ma mère Hortense AGBO et à mon père Rémy Dègla
ADDA,*

*Dans notre culture, C'est par nos actes que nous exprimons nos
sentiments, recevez ceci en guise de tout l'amour que j'ai pour vous
et en guise de la reconnaissance de tous les efforts que vous avez
consentis pour mes frères et moi. Aussi longtemps que Dieu me
prêtera vie, je tâcherai de vous rendre fier.*

A mon frère Selomin Réthens ADDA,

Que ceci soit une inspiration pour toi. Quel que soit le chemin que tu décideras de suivre dans la vie, bats toi, travaille dur, et ne lâches prise que quand tu seras arrivé le plus loin possible.

A Christian ADDA, son épouse Sika et mes neveux

Melvyn, Karl et Tahira

*Merci pour votre soutien inconditionnel depuis mon arrivée dans ce
pays. Sans vous, le chemin aurait été beaucoup plus parsemé
d'embuches.*

Aucune dédicace ne saurait exprimer toute ma reconnaissance.

Puisse le seigneur vous combler de ses grâces.

*A toute la famille ADDA de Paouignan et partout
dans le monde*

A toute la famille AGBO

A mes amis et promotionnaires de Kénitra et de Rabat,

J'ai partagé avec vous des moments inoubliables de ma vie. Entre joies, peines, fêtes, déceptions et galères vous avez contribué à façonner la personne que je suis devenu aujourd'hui.

En espérant garder les liens que nous avons tissés durant toutes ces années, je vous souhaite le meilleur dans vos carrières respectives.

A tous mes amis au Bénin, au Maroc et partout dans le monde.



Remerciements

A notre Maître et Président de thèse

Monsieur Abdelouahed BAITE

*Professeur d'Anesthésie Réanimation- Hôpital
militaire d'Instruction Mohamed V-Rabat (HMIMV)*

*Directeur de l'Ecole Royale du Service de Santé
Militaire (ERSSM)*

*C'est un immense honneur que vous nous faites en acceptant de
présider le jury de cette thèse avec plaisir et sans conditions.*

Veillez trouver ici, l'expression de notre profonde reconnaissance !

A notre Maitre et Rapporteur de Thèse

Monsieur Abdelhay LEMNOUER

Professeur de bactériologie

Laboratoire de bactériologie - Hôpital militaire

d'Instruction Mohamed V-Rabat (HMIMV)

*D'abord mon Maitre de stage puis, Maitre de thèse, ce travail
n'aurait jamais pu aboutir sans votre implication.*

*Vos qualités de pédagogue et votre capacité à facilement
transmettre votre savoir durant mon stage au sein du laboratoire de
Bactériologie de l'HMIMV m'ont tout de suite donnés envie
d'apprendre plus à vos côtés.*

*Merci pour votre disponibilité, votre encadrement, vos conseils et
pour vos qualités humaines. Veuillez agréer mon plus profond
respect et ma sincère reconnaissance.*

A notre maître et juge de thèse

Monsieur Mostafa ELOUENNASS

Professeur de Bactériologie

*Chef de service du laboratoire de Bactériologie de
l'Hôpital militaire d'Instruction Mohamed V-Rabat
(HMIMV)*

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

*Nous avons énormément appris à vos côtés pendant notre stage au
sein du laboratoire de Bactériologie de l'HMIMV.*

*Durant notre stage nous avons apprécié la qualité de vos
enseignements et votre dévouement au travail.*

Veillez trouver ici, l'expression de notre reconnaissance.

A notre maître et juge de thèse

Monsieur Azeddine IBRAHIMI

*Professeur de biotechnologie et chef du laboratoire de
biotechnologie*

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

*Nous vous remercions d'avoir accepté, et ce sans hésitation, de
siéger dans notre jury. Nous sommes très honorés de votre présence
parmi notre jury de thèse.*

*Veillez trouver ici, le témoignage de notre vive gratitude et de nos
respectueux sentiments.*

A notre maître et juge de thèse

Monsieur Tligui Houssain

Professeur de Parasitologie et de Mycologie Médicale

Chef du Laboratoire de Recherche du Centre

Hospitalier Ibn Sina

*Nous vous remercions d'avoir accepté de juger notre travail. Notre
gratitude est grande pour l'intérêt que vous avez montré à
l'encontre de notre travail.*

*Veillez accepter, nos remerciements ainsi que le témoignage de notre
respect et notre reconnaissance.*

A Monsieur Mohammed FRIKH
Professeur assistant en microbiologie,
Laboratoire de bactériologie - Hôpital militaire
d'Instruction Mohamed V-Rabat (HMIMV)

Nous vous remercions pour votre soutien et vos conseils pour la
réalisation de ce travail.

Permettez-nous de vous exprimer ici notre profonde reconnaissance.

*A tous mes enseignants de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de
Rabat (FMPPR)*

*A tout le personnel du Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire
de Rabat*

A l'Agence Marocaine de Coopération Internationale (AMCI)

A l'Association des Stagiaires et Etudiants Béninois au Maroc (ASEBEM)

*A l'Amicale des Etudiants Médecins et Pharmaciens Etrangers de Rabat
(AMPER)*

A tout le personnel de la pharmacie Michlifén de Rabat

Au Dr Jean Uwingabiye,

Merci pour l'aide et la collaboration dans la réalisation de ce travail

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail



Liste des illustrations

Liste des abréviations

| | |
|--------------|--|
| ADN | : Acide Désoxyribo Nucléique |
| ADNg | : Acide Désoxyribo Nucléique Génomique |
| ATB | : Antibiotique |
| BCP | : Pourpre de Bromocrésol |
| BET | : Bromure d'Ethidium |
| BGN | : Bacille Gram Négatif |
| BLSE | : Bêtalactamase à Spectre Etendu |
| CASFM | : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie |
| CHDL | : Carbapenem-Hydrolyzing Class D beta-lactamase (beta-lactamase de classe D à activité de carbapénémase) |
| CMI | : Concentration Minimale Inhibitrice |
| DO | : Densité Optique |
| EPC | : Entérobactérie Porteuse de Carbapénémases |
| FAR | : Forces Armées Royales |
| FN | : Faux Négatifs |
| FP | : Faux Positifs |
| GBEA | : Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale. |
| HCl | : Chlorure d'Hydrogène |
| HMIMV | : Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V |
| MBL | : Métallo Bêta Lactamase |

| | |
|-------------------------|---|
| NaCl | : Chlorure de sodium |
| NaOH | : Hydroxyde de Sodium |
| PCR | : Polymerase Chain Reaction (Réaction en Chaîne par Polymérase) |
| pH | : Potentiel Hydrogène |
| PLP | : Protéines de Liaison des Pénicillines |
| SARM | : Staphylococcus Aureus Résistants à la Méricilline |
| TBE | : Tris-Borate-EDTA |
| TH | : Test de Hodge modifié |
| TSA | : Trypto-Caséine Soja Agar |
| UFC | : Unité formant colonie |
| UV | : Ultra-Violet |
| VN | : Vrai Négatifs |
| VP | : Vrai Positifs |
| VPN | : Valeur Prédictive Négative |
| VPP | : Valeur Prédictive Positive |
| ZnSO₄ | : Sulfate de Zinc |
| [] | : Bibliographie |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: Résultat positif au Carba NP Test..... | 20 |
| Figure 2: Résultat négatif au Carba NP Test..... | 21 |
| Figure 3: Résultat non interprétable du Carba NP Test..... | 21 |
| Figure 4 : Concentration d'ADN obtenue en fonction du volume d'élution et rendement de l'extraction..... | 26 |
| Figure 5: Résumé du protocole d'extraction de l'ADN..... | 27 |
| Figure 6: Thermocycleur utilisé pour la PCR | 30 |
| Figure 7: Gel de migration pour l'électrophorèse..... | 31 |
| Figure 8: Lecture sous UV après migration | 33 |
| Figure 9 Histogramme des résultats du Test de Hodge modifié pour <i>Acinetobacter baumannii</i> | 37 |
| Figure 10: Histogramme des résultats du Test de Hodge modifié pour les entérobactéries | 38 |
| Figure 11: Histogramme des résultats du Carba NP test pour <i>Acinetobacter baumannii</i> | 41 |
| Figure 12: Histogramme des résultats du Carba NP test pour les Entérobactéries | 42 |
| Figure 13 : Structure générale des Carbapénèmes | 45 |
| Figure 14: Structures chimiques des carbapénèmes | 45 |
| Figure 15: Schéma de la paroi d'une bactérie gram négatif | 48 |
| Figure 16: Schéma du mécanisme de résistance aux antibiotiques par système d'efflux | 52 |
| Figure 17: Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux . | 54 |
| Figure 18: Test de Hodge modifié | 64 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I: Critères d'interprétation de la sensibilité aux carbapénèmes sur antibiogramme et CMI sur les Entérobactéries selon les recommandations du CA SFM..... | 8 |
| Tableau II: Liste des antibiotiques testés pour les Entérobactéries au niveau du service de Bactériologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat..... | 12 |
| Tableau III: Liste des antibiotiques testés pour les Acinétobacters au niveau du service de Bactériologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat..... | 13 |
| Tableau IV: Tableau d'interprétation des résultats du Carba NP Test..... | 20 |
| Tableau V: Résultats de la PCR multiplex pour Acinétobacter baumannii (n=63) | 35 |
| Tableau VI: Résultats de la PCR multiplex pour les entérobactéries (n=15)..... | 35 |
| Tableau VII: Résultats du Test de Hodge modifié pour Acinétobacter baumannii (n=63) | 36 |
| Tableau VIII: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Test de Hodge modifié pour Acinétobacter baumannii | 37 |
| Tableau IX: Résultats du Test de Hodge modifié pour les entérobactéries (n=15) | 38 |
| Tableau X: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Test de Hodge modifié pour les entérobactéries | 39 |
| Tableau XI: Résultats du Carba NP Test pour Acinétobacter baumannii (n=63) | 40 |
| Tableau XII: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Carba NP Test | |

| | |
|--|----|
| pour <i>Acinetobacter baumannii</i> | 41 |
| Tableau XIII: Résultats du Carba NP Test pour les entérobactéries (n=15) | 42 |
| Tableau XIV: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Carba NP Test pour les entérobactéries | 42 |
| Tableau XV: Propriétés pharmacocinétiques des carbapénèmes..... | 47 |
| Tableau XVI: Spectre d'action des Carbapénèmes | 49 |
| Tableau XVII: Mécanismes de résistance des bactéries aux carbapénèmes | 50 |
| Tableau XVIII: Principales carbapénémases acquises chez les bacilles à Gram négatif et leur diffusion géographique | 62 |



Sommaire

| | |
|---|----|
| Introduction | 1 |
| Matériels et méthodes | 6 |
| I. Type d'étude et lieu de l'étude | 7 |
| II. Critères d'inclusion des isolats bactériens..... | 8 |
| III. Analyse microbiologique des prélèvements | 9 |
| 1. Examen macroscopique | 9 |
| 2. Examen microscopique | 10 |
| 2.1. L'examen direct à l'état frais..... | 10 |
| 2.2. La coloration de Gram : | 10 |
| 3. L'isolement | 10 |
| 4. L'identification..... | 10 |
| 5. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)..... | 11 |
| 5.1. Technique utilisée | 11 |
| 5.2. Détection de la résistance aux carbapénèmes..... | 14 |
| 5.3. Détection de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié | 15 |
| IV. Détection de la production de carbapénémase par Carba NP Test..... | 16 |
| 1. Préparation des réactifs..... | 16 |
| 1.1. Préparation de la gélose Trypticase Soja supplémentée de ZnSO ₄ | 16 |
| 1.2. Repiquage des souches sur Gélose trypticase Soja supplémentée au ZnSO ₄ | 17 |
| 1.3. Préparation de la solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume... | 17 |
| 1.4. Préparation de la solution de NaOH 1N..... | 17 |
| 1.5. Préparation de la solution de ZnSO ₄ 10mM | 17 |
| 2. Préparation et conservation de la Solution A..... | 18 |
| 3. Préparation de la solution A + Imipénème (6mg/ml)..... | 18 |
| 4. Protocole du Carba NP Test..... | 18 |
| V. Confirmation et identification moléculaire des carbapénémases par PCR..... | 22 |
| 1. L'extraction de l'ADN | 22 |
| 2. La PCR proprement dite | 28 |

| | | |
|-----------------------------|---|-----------|
| 2.1. | Matériels de PCR standard : | 28 |
| 2.2. | Réactifs : | 28 |
| 2.3. | Détection des gènes Oxa par PCR..... | 29 |
| 2.4. | Séquence des amorces..... | 29 |
| 2.5. | Les conditions d'amplification : | 30 |
| 2.6. | Electrophorèse sur gel d'agarose | 30 |
| Résultats | | 34 |
| I. | Résultats de la PCR multiplex | 35 |
| 1. | Acinetobacter baumannii..... | 35 |
| 2. | Entérobactéries..... | 35 |
| II. | Résultats de la détection de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié | 36 |
| 1. | Acinetobacter baumannii..... | 36 |
| 1.1. | Résultats | 36 |
| 1.2. | Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives..... | 37 |
| 2. | Entérobactéries..... | 38 |
| 2.1. | Résultats | 38 |
| 2.2. | Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives..... | 39 |
| III. | Résultats de la détection de la production de carbapénémase par Carba NP Test..... | 40 |
| 1. | Acinetobacter baumannii..... | 40 |
| 1.1. | Résultats | 40 |
| 1.2. | Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives..... | 41 |
| 2. | Entérobactéries..... | 41 |
| 2.1. | Résultats | 41 |
| 2.2. | Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives..... | 42 |
| Discussion | | 43 |
| Partie 1 : Les carbapénèmes | | 44 |
| 1. | Généralités sur les Carbapénèmes..... | 44 |
| 2. | Structure chimique des carbapénèmes | 44 |
| 3. | Propriétés pharmacocinétiques des carbapénèmes..... | 46 |

| | |
|--|----|
| 4. Mécanisme d'action des carbapénèmes..... | 48 |
| 5. Spectre d'activité des carbapénèmes..... | 48 |
| Partie 2: Mécanismes de résistance des microorganismes aux carbapénèmes..... | 50 |
| 1. Bactéries productrices de carbapénémases..... | 50 |
| 2. Modification des Protéines Liant les Pénicillines PLP | 51 |
| 3. Système d'efflux | 51 |
| 4. Réduction de la perméabilité membranaire : Porines..... | 55 |
| 5. Inhibition enzymatique : Carbapénémases | 56 |
| 5.1. Carbapénémases de Classe A..... | 57 |
| 5.2. Carbapénémase de Classe B : Métallo β -lactamase (VIM ; IMP ; NDM...).. | 58 |
| 5.3. Carbapénémase de Classe D : oxacillinases (OXA-48, OXA-163, OXA-181). | 60 |
| Partie 3: Méthodes de détection des carbapénémases..... | 63 |
| 1. Méthodes Phénotypiques..... | 63 |
| 1.1. Test de Hodge modifié..... | 63 |
| 1.2. Méthode des E-tests ou disques combinés | 67 |
| 1.3. Tests biochimiques de détection de la production d'une carbapénémase..... | 67 |
| 1.4. Méthode de dépistage : milieu gélosé avec inhibiteurs | 71 |
| 2. Méthodes Moléculaires | 72 |
| 3. Comparaison entre le Test de Hodge modifié et le Carba NP Test | 75 |
| Limites de notre étude | 78 |
| Recommandations pour le bon usage des carbapénèmes | 79 |
| Mesures communes de prévention de la diffusion par transmission croisée de bactéries multirésistantes (BMR) [..... | 80 |
| Conclusion | 83 |
| Résumés | 86 |
| Bibliographie | 90 |



Introduction

Depuis l'avènement de l'antibiothérapie, l'utilisation des antibiotiques semble s'accompagner inexorablement de l'émergence de bactéries résistantes [1].

Les mécanismes biochimiques de résistance des bactéries aux antibiotiques sont au nombre de quatre [1,2]: La modification de la cible de l'antibiotique, la présence d'un système d'efflux au niveau des cellules bactériennes, l'imperméabilisation de la membrane de la bactérie et surtout la production d'une enzyme (bêta-lactamase) modifiant ou détruisant l'antibiotique.

Les carbapénèmes, famille d'antibiotiques à large spectre, à usage exclusivement hospitalier principalement utilisés dans le traitement des infections à bactéries multi résistantes associées aux soins n'échappent pas à ce phénomène.

La résistance des bactéries aux carbapénèmes s'explique essentiellement par deux mécanismes [2]: Le premier résulte d'un défaut de perméabilité membranaire par altération qualitative ou quantitative des porines membranaires, voie de pénétration des carbapénèmes dans la bactérie ; et le second correspond à l'inactivation de l'antibiotique par la production de carbapénémases.

Les carbapénémases sont des enzymes qui hydrolysent les carbapénèmes et entraînent la perte d'activité de ces dernières. La baisse des prix des médicaments due à l'apparition des médicaments génériques a entraîné une augmentation des prescriptions des carbapénèmes, et donc une pression de sélection qui a favorisé l'émergence de ces enzymes.

Elles ont été décrites pour la première fois en Grande Bretagne en 1982 chez des souches de *S. Marcescens* [3]. Depuis, l'émergence de ces enzymes est décrite de façon croissante dans le monde entier et constitue un réel problème pour la santé publique, les carbapénèmes représentant très souvent les dernières molécules actives de l'arsenal thérapeutique pour combattre les bactéries multi résistantes [2] ; Ceci faisant craindre des impasses thérapeutiques [4].

En France, Le nombre de signalements d'EPC a considérablement augmenté depuis 10 ans, 753 épisodes ayant été signalés entre 2012 et 2014, et 160 pour la période 2004–2011 [4].

Actuellement, la Turquie, le Moyen-Orient et les pays du Maghreb sont considérés comme étant les principaux réservoirs de souches productrices d'OXA-48.

Au Maroc, depuis la première description en 2009 par Benouda et al [5] du premier cas de *K. pneumoniae* OXA-48 positive ce mécanisme de résistance aux carbapénèmes a connu une dissémination nosocomiale importante à travers diverses espèces bactériennes, suggérant un état endémique [6].

L'incidence des entérobactéries sécrétrices de carbapénémases n'est pas encore bien illustrée à cause du manque de données épidémiologiques nationales [6]. Cependant plusieurs études réalisées dans les Centres Hospitaliers Universitaires ont confirmé la présence de bactéries productrices de carbapénémases dans les hôpitaux du royaume [6].

L'émergence des bactéries productrices de carbapénémases est d'autant plus inquiétante que ces enzymes sont codées aussi bien par des gènes chromosomiques que plasmidiques ce qui entraîne une diffusion importante à d'autres bactéries [7].

De plus, ces bactéries sont associées à une mortalité élevée et un surcoût pour les hôpitaux. Ce surcoût est dû à la perte d'activité du service (fermeture de lits, hospitalisations prolongées) et au renfort du personnel [2].

La prévention de la dissémination des bactéries productrices de carbapénémase repose essentiellement sur la détection efficace des patients colonisés, et ce, dès les stades précoces de leur hospitalisation [8].

Il est donc très important de disposer de techniques efficaces, spécifiques et sensibles de détection rapide des bactéries productrices de carbapénémases.

Il existe deux grandes méthodes de détection des bactéries productrices de carbapénémase : les méthodes phénotypiques et les méthodes moléculaires.

Les méthodes phénotypiques d'identification de bactéries productrices de carbapénémase comme le test de HODGE modifié, manquent de spécificité et de sensibilité et prennent beaucoup de temps [9,10].

Les techniques moléculaires reposent sur la recherche de gènes responsables de la production de carbapénémases par PCR, complétée ou non par une technique de séquençage de l'ADN amplifié. Ces techniques sont très efficaces mais elles sont chères et nécessitent un degré élevé d'expertise qu'on ne retrouve pas dans les laboratoires non spécialisés et prennent du temps [10,11].

Le Carba NP Test est une nouvelle méthode de détection de bactéries productrices de carbapénémase. Cette technique a été développée par Laurent Poirel et Patrice Nordmann. Le principe du Carba NP test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénémase [10].

L'objectif de notre travail est d'une part de mettre au point le Carba NP Test au niveau du laboratoire de Bactériologie de L'hôpital Militaire d'Instruction MOHAMMED V de Rabat (HMIMV), puis de comparer les résultats obtenus à ceux donnés par le test de HODGE modifié en prenant pour référence les résultats issus de la détection des gènes induisant la production de carbapénémases par PCR multiplex.



Matériels et méthodes

Pour mener notre étude, nous avons procédé à une analyse microbiologique des prélèvements suivie d'une détection phénotypique de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié. Ensuite nous avons mis au point le Carba NP Test et avons comparé ses résultats à ceux donnés par le Test de Hodge modifié.

Nous nous sommes basés sur la note technique « **Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase** » du **Centre National de Référence (CNR) Résistance aux Antibiotiques** au niveau de l'Hôpital de Bicêtre, Service de Bactériologie-Hygiène publié en Mars 2015.

Pour les *Acinetobacter baumannii*, nous avons utilisé le Carbacinéto NP test qui ne diffère du Carba NP Test que par une modification des conditions de lyse bactérienne et une augmentation de l'inoculum bactérien. En effet le tampon de lyse est ici remplacé par une solution de NaCl 5M [12].

L'utilisation d'une solution de NaCl 5M présente deux avantages :

➔ Elle permet d'une part d'éviter l'effet de la solution tampon qui empêche le virage de l'indicateur coloré pour de faibles variations de pH (dans notre cas faible libération de carbapénémase car CHDL chez *Acinetobacters*).

➔ D'autre part la solution étant très concentrée on obtient la lyse bactérienne par effet hyperosmotique.

I. Type d'étude et lieu de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive, prospective, réalisée au laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat (HMIMV), un centre hospitalier relevant du service de santé des Forces Armées Royales (F.A.R) d'une capacité litière d'environ 700 lits.

II. Critères d'inclusion des isolats bactériens

Nous avons travaillé sur des isolats bactériens au niveau du laboratoire de bactériologie de l'HMIMV de Rabat. Nos isolats proviennent de divers services de l'hôpital et de divers échantillons cliniques (urines, hémocultures, prélèvements bronchiques etc.).

Nous avons inclus dans notre étude **78** bactéries susceptibles de produire une carbapénémase. Dans cet échantillon, nous avons **63** *Acinetobacter baumannii* et **15** entérobactéries dont **8** *Escherichia Coli*, **5** *Klebsiella Pneumoniae*, un **(01)** *Proteus Mirabilis* et une **(01)** *Salmonella Typhi*

Nous avons considéré comme susceptible de produire une carbapénémase tout isolat bactérien résistant ou présentant une sensibilité intermédiaire aux carbapénèmes.

Tableau I: Critères d'interprétation de la sensibilité aux carbapénèmes sur antibiogramme et CMI sur les Entérobactéries selon les recommandations du CA SFM.

| | CMI (mg/L) | | Diamètre (mm) | |
|--------------------------|------------|---|---------------|----|
| | C | C | d | D |
| <i>Imipénème (10µg)</i> | 2 | 8 | 16 | 22 |
| <i>Ertapénème (10µg)</i> | 0.5 | 1 | 22 | 25 |
| <i>Méropénème (10µg)</i> | 2 | 8 | 16 | 22 |
| <i>Doripénème (10µg)</i> | 1 | 2 | 21 | 24 |

Sensible S : si CMI <ou = c ou bien Diamètre > D

Résistant R : si CMI > C ou bien Diamètre < ou = d

Intermédiaire I : si c < CMI < C ou bien d < Diamètre < D

Tableau II: Critères d'interprétation de la sensibilité aux carbapénèmes sur antibiogramme et CMI sur *Acinetobacter spp* selon les recommandations du CA SFM

| | CMI (mg/L) | | Diamètre (mm) | |
|--------------------------|------------|---|---------------|----|
| | C | c | d | D |
| <i>Imipénème (10µg)</i> | 2 | 8 | 17 | 23 |
| <i>Ertapénème (10µg)</i> | - | - | - | - |
| <i>Méropénème (10µg)</i> | 2 | 8 | 15 | 21 |
| <i>Doripénème (10µg)</i> | 1 | 2 | 20 | 23 |

Sensible S : si CMI \leq c ou bien Diamètre $>$ D

Résistant R : si CMI $>$ C ou bien Diamètre \leq d

Intermédiaire I : si $c < \text{CMI} < C$ ou bien $d < \text{Diamètre} < D$

III. Analyse microbiologique des prélèvements

Toutes les phases pré-analytique, analytique et post analytique ont été réalisées selon les règles du **Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA)**.

Après la vérification de leur conformité, tous les prélèvements ont été traités suivant le schéma qui suit :

1. Examen macroscopique

Les caractères macroscopiques du prélèvement sont recueillis: Aspect (purulent, hématique); la couleur, et la consistance.

2. Examen microscopique

2.1. L'examen direct à l'état frais

Ici nous avons mis entre lame et lamelle une suspension de l'échantillon afin d'apprécier la réaction cellulaire et une mobilité caractéristique.

2.2. La coloration de Gram :

Elle nous a permis d'observer la morphologie des bactéries, leur groupement, et leurs affinités tinctoriales. Elle a aussi servi au choix des milieux de culture spécifiques.

3. L'isolement

Il a été fait après ensemencement des milieux de culture : la gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP), la gélose au sang, gélose chocolat. Après ensemencement, l'incubation a été faite pendant 18 à 24h :

- ✓ Soit dans une étuve à 37°C en aérobiose pour tous les milieux ne contenant pas de sang,
- ✓ Soit dans une étuve à 5 à 10% CO₂ pour tous les milieux additionnés de sang,
- ✓ Soit dans la jarre pour les germes anaérobies stricts (anaérobiose garantie par un sachet consommant l'O₂)

4. L'identification

Elle a été faite en combinant toutes les informations collectées : l'aspect macroscopique des colonies, la coloration de Gram. On a également eu recours dans certains cas aux caractères biochimiques (test à l'oxydase, ...).

Dans certains cas, nous avons utilisé une galerie biochimique d'indentification.

5. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

5.1. Technique utilisée

Nous l'avons réalisé selon la méthode de diffusion sur gélose Müller Hilton conformément aux recommandations du CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) [13].

Une suspension inoculum est préparée à partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif en solution saline (0,9% NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 ($\sim 10^8$ UFC/ml). Sur milieu gélose Mueller-Hilton, l'ensemencement est réalisé par inondation avec la suspension inoculum diluée au 1/100 ($\sim 10^6$ UFC/mL).

Les disques utilisés pour les entérobactéries figurent dans le tableau III et ceux utilisés pour les *Acinetobacters* dans le tableau IV [13].

Tableau III: Liste des antibiotiques testés pour les Entérobactéries au niveau du service de Bactériologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat

| ANTIBIOTIQUES | | CHARGE DU DISQUE | DIAMETRE CRITIQUE | |
|-------------------------------|-------------------------------------|------------------|-------------------|----|
| | | | S>= | R< |
| <i>Pénicillines</i> | Amoxicilline | 20 | 19 | 19 |
| | Ampicilline | 10 | 14 | 14 |
| | Amoxicilline/ Acide clavulanique | 20/10 | 19 | 19 |
| | Ticarcilline/ Acide clavulanique | 75/10 | 23 | 23 |
| | Pipéracilline/ Tazobactam | 30/6 | 20 | 17 |
| <i>Céphalosporines</i> | Céfalexine | 30 | 14 | 14 |
| | Cefadopoxime | 30 | 21 | 21 |
| | Ceftriaxone | 30 | 23 | 20 |
| | Céfoxitine | 30 | 19 | 15 |
| | Ceftazidime | 10 | 22 | 19 |
| | Céfépime | 30 | 24 | 21 |
| <i>Carbapénèmes</i> | Ertapénème | 10 | 25 | 22 |
| | Imipenème | 10 | 22 | 16 |
| <i>Quinolones</i> | Acide Nalidixique | 30 | 19 | 14 |
| | Ciprofloxacine | 5 | 22 | 19 |
| <i>Aminosides</i> | Amikacine | 30 | 16 | 13 |
| | Gentamicine | 10 | 17 | 14 |
| <i>Monobactams</i> | Aztréonam | 30 | 24 | 21 |
| <i>Divers</i> | Sulfaméthoxazole/ Triméthoprime | 1,25/23,75 | 16 | 13 |

Tableau IV: Liste des antibiotiques testés pour les Acinetobacters au niveau du service de Bactériologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat

| ANTIBIOTIQUES | | CHARGE DU DISQUE | DIAMETRE CRITIQUE | |
|-------------------------|-------------------------------------|------------------|-------------------|---------|
| | | | S \geq | R $<$ |
| <i>Pénicillines</i> | Pipéracilline | 100 | 21 | 18 |
| | Pipéracilline/ Tazobactam | 100/10 | 21 | 18 |
| | Ticarcilline | 75 | 20 | 15 |
| | Ticarcilline/ Acide Clavulanique | 75/10 | 20 | 15 |
| <i>Céphalosporines</i> | Céfépime | 30 | 18 | 15 |
| | Céfotaxime | 30 | 23 | 15 |
| | Ceftazidime | 30 | 18 | 15 |
| | Cefriaxone | 30 | 21 | 14 |
| <i>Carbapénèmes</i> | Doripénème | 10 | 23 | 20 |
| | Ertapénème | - | - | - |
| | Imipénème | 10 | 23 | 17 |
| | Méropénème | 10 | 21 | 15 |
| <i>Fluoroquinolones</i> | Ciprofloxacine | 5 | 21 | 21 |
| | Lévofloxacine | 5 | 21 | 18 |
| <i>Aminosides</i> | Amikacine | 30 | 18 | 15 |
| | Gentamicine | 10 | 17 | 17 |
| | Nétilmicine | 10 | 16 | 16 |
| | Tobramycine | 10 | 17 | 17 |
| <i>Tétracyclines</i> | Doxycycline | 30 | 13 | 10 |
| | Minocycline | 30 | 16 | 13 |
| | Tétracycline | 30 | 15 | 12 |
| <i>Divers</i> | Colistine** | | 2 (CMI) | 2 (CMI) |
| | Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole | 1,25/23,75 | 16 | 13 |

** : Pour la Colistine, Les diamètres d'inhibition ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique.

La lecture par un système semi-automatique, (Osiris. Bio-Rad France version 4.5, qui intègre une caméra de lecture, un logiciel d'interprétation, et un module épidémiologique) est faite puis validée par un biologiste. Cette lecture permet de catégoriser les bactéries comme suit :

- * Sensible (S) : antibiotique efficace au moins in vitro.
- * Intermédiaire (I) : antibiotique efficace dans certaines conditions (ex : augmenter les doses si possible car action imprévisible in vivo).
- * Résistance (R) : antibiotique inefficace.

5.2. Détection de la résistance aux carbapénèmes

L'observation d'un contact ou d'une réduction du diamètre d'inhibition autour d'un disque de carbapénème induit une suspicion de production de carbapénémases par la bactérie. Dans certains, nous avons mesuré la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). Les valeurs de référence étaient celles recommandées par le CA SFM [13].

Les diamètres recommandés en fonction des antibiotiques et de leur charge figurent dans le tableau I pour les entérobactéries et dans le tableau II pour les *Acinetobacter baumannii*.

Notons que l'ertapénème n'est pas utilisée pour le dépistage de la production de carbapénémases chez les *Acinetobacters* car ces derniers sont naturellement résistants à l'ertapénème [13].

5.3. Détection de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié

Nous l'avons effectué systématiquement pour toute souche soupçonnée d'être productrice de carbapénémase. Nous avons ensemencé en culture confluyente (à l'aide d'un écouvillon) une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ d'une suspension de Densité Optique (DO) = 0.5 Mc Farland de la souche E. coli ATCC 25922 sur une gélose Muller Hinton. Ensuite, un disque d'imipénème chargé à 10 μg est déposé au centre de la boîte et chaque souche testée est ensemencée de manière radiale à partir du disque jusqu'au bord de la boîte de Pétri. Nous avons aussi ensemencé de manière radiale un témoin négatif et un témoin positif sur la même boîte pour faciliter l'interprétation. La présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif après incubation pendant 18 h à 37°C [14].

IV. Détection de la production de carbapénémase par Carba NP Test

Le matériel nécessaire pour effectuer ce test est le suivant :

- Gélose trypticase Soja supplémentée de $ZnSO_4$;
- Rouge de Phénol en poudre ;
- $ZnSO_4, 7 H_2O$ en poudre ;
- Imipénème+ Cilastatine (poudre pour solution injectable IV = antibiotique à usage médical) ;
- Contrôles négatif (E. coli de phénotype de sensibilité sauvage) et positif (K. pneumoniae OXA-48 ou K. pneumoniae KPC-2) ;
- Tampon de lyse: B-PERII, Bacterial Protein Extraction Reagent (Thermo Scientific, Pierce) ;
- Ph-mètre ;
- Tubes Eppendorf de 1.5 ml.

1. Préparation des réactifs

1.1. Préparation de la gélose Trypticase Soja supplémentée de $ZnSO_4$

- Dans 1L d'eau distillée, nous avons ajouté
 - 40g de poudre de Trypticase Soja Agar
 - 70 mg de $ZnSO_4$
- Nous avons ensuite porté le mélange à ébullition sous agitation jusqu'à dissolution complète de la poudre et obtention d'une solution limpide.
- Ensuite nous avons stérilisé la solution préparée à 121°C pendant 15 minutes.

- Nous avons fini par la répartition de la solution stérile obtenue autour d'une flamme (pour éviter les contaminations du milieu) dans des boîtes de pétri stériles.
- Puis nous avons laissé nos milieux refroidir avant de les utiliser.

1.2. Repiquage des souches sur Gélose trypticase Soja supplémentée au ZnSO₄

Le Carba NP Test ne doit pas être réalisé sur n'importe quel milieu. La gélose Trypticase Soja supplémentée au Sulfate de Zinc étant celui recommandé, nous avons repiqué toutes nos souches sur ce milieu et les avons laissées pousser pendant 24h avant de procéder au test.

1.3. Préparation de la solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume

Nous avons pris 0.5g de rouge de phénol que nous avons dissous dans 100 ml d'eau distillée et nous avons homogénéisé.

1.4. Préparation de la solution de NaOH 1N

Pour préparer la solution de NaOH 1N, nous avons dissous 4g de cristaux de NaOH dans 100 ml d'eau distillée. Puis nous avons homogénéisé la solution.

1.5. Préparation de la solution de ZnSO₄ 10mM

Pour obtenir la solution de ZnSO₄, nous avons pris 0.29g de ZnSO₄ que nous avons dissout dans 100ml d'eau distillée. Ensuite nous avons homogénéisé la solution obtenue.

2. Préparation et conservation de la Solution A

1. Nous avons mélangé 2 ml de la solution concentrée de rouge phénol (après avoir bien vortexé avant pipetage pour resuspendre correctement la solution concentrée de rouge phénol) dans 16.6 ml d'eau distillée,

2. Nous avons ajusté le pH à 7.8 en ajoutant, goutte à goutte d'une solution de NaOH (1 N),

3. Ensuite nous avons ajouté 180 µl d'une solution de ZnSO₄ 10 mM pour obtenir une concentration finale de ZnSO₄ à 0.1 mM. La Solution A est stable à température ambiante pendant 1 semaine et peut être conservée pendant plusieurs mois à -20°C. Solution A + imipénème (6 mg/ml) doit impérativement être préparée extemporanément. Cependant, des aliquots de poudre d'imipénème peuvent être pesés à l'avance et conservés à 4°C pendant 2 semaines si la solution A n'a pas été ajoutée.

3. Préparation de la solution A + Imipénème (6mg/ml)

Nous avons prélevé 10 ml de la Solution A précédemment préparée dans un flacon propre et nous y avons ajouté 60mg d'Imipenème + Cilastatine.

Ensuite nous avons homogénéisé pour obtenir la Solution A + Imipenème

NB : Cette solution est préparée extemporanément.

4. Protocole du Carba NP Test

1. Nous avons ajouté 100 µl de 20 mM Tris-HCl lysis buffer (B-PERII, Bacterial Protein Extraction Reagent, Thermo Scientific, Pierce) ou de NaCl 5M dans le cas des *Acinetobacters baumannii* dans 2 tubes Eppendorf de 1.5 ml

2. Ensuite, nous avons bien resuspendu la moitié d'une öse calibrée (10 µl) de colonies bactériennes dans chacun des deux tubes contenant 100 µl de 20 mM Tris-HCl lysis buffer ou de NaCl. (Utiliser un inoculum plus important pour les *Acinétobacters baumannii*)

NB : Le Carba NP test a été validé à partir de colonies bactériennes ayant poussées sur des géloses Mueller-Hinton (Becton Dickinson, Le-Pont-de-Chaix, France), des géloses au sang, des géloses Trypticase soja, et la plupart des milieux de cultures commerciaux ou non, utilisés pour le screening des bactéries productrices de carbapénémases (Supercarba medium, CRE Brilliance..).

NE PAS REALISER le Carba NP test sur des colonies provenant de milieux gélosés Drigalski ou McConkey.

Milieu recommandé : Gélose Trypticase soja supplémentée avec ZnSO₄ à 70 µg/ml

3. Nous avons ensuite vérifié que les bactéries ont bien été remises en suspension.

4. Pour chaque souche à tester, nous avons ajouté (i) 100 µl de Solution A dans le premier tube eppendorff puis (ii) 100 µl de Solution A + imipénème 6 mg/ml dans le second tube eppendorff

5. Puis nous avons incubé à 37°C pendant un maximum de 2 h.

6. L'interprétation a été faite par lecture visuelle de la couleur de chaque tube.

Interprétation

L'interprétation des résultats a été faite suivant le tableau ci-dessous :

Tableau V: Tableau d'interprétation des résultats du Carba NP Test

| | Pas d'antibiotique | Imipénème |
|-----------------------------|---------------------------|------------------|
| <i>Pas de Carbapénémase</i> | Rouge | Rouge |
| <i>Carbapénémase</i> | Rouge | Orange/Jaune |
| <i>Non interprétable</i> | Jaune | Jaune |

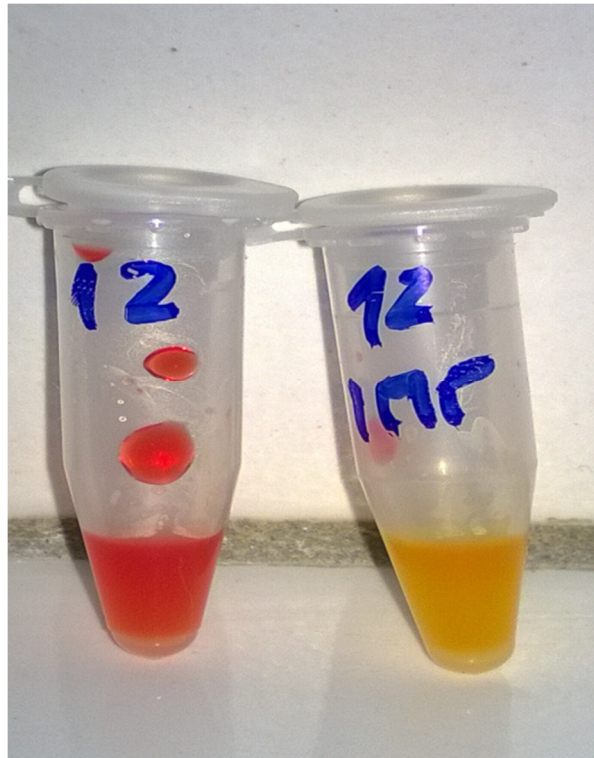


Figure 1: Résultat positif au Carba NP Test

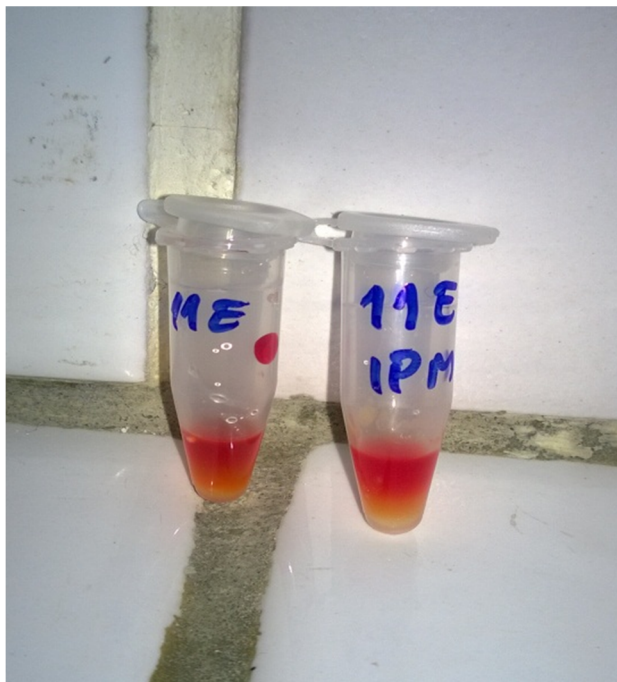


Figure 2: Résultat négatif au Carba NP Test

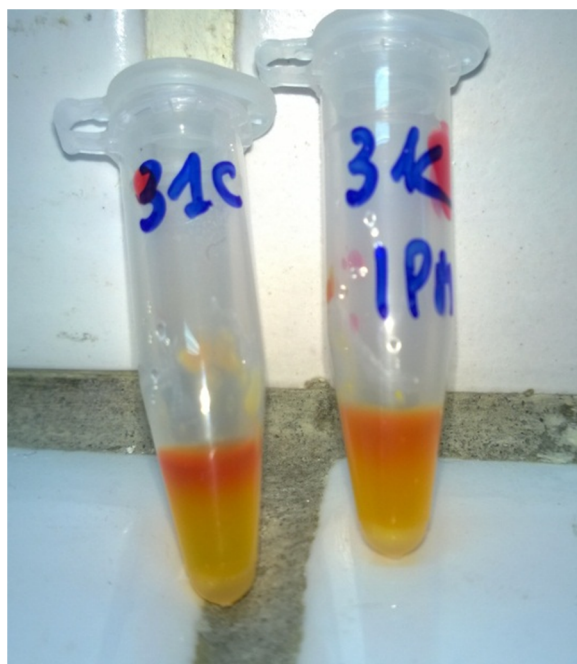


Figure 3: Résultat non interprétable du Carba NP Test

V. Confirmation et identification moléculaire des carbapénémases par PCR

1. L'extraction de l'ADN

Pour extraire l'ADN, nous avons utilisé le kit d'extraction **PURLINK GENOMIC DNA MINI KIT®**.

Le protocole d'extraction que nous avons utilisé pour les BGN est celui recommandé par le fabricant:

➤ Cultiver les cellules bactériennes en milieu liquide jusqu'à ce qu'elles atteignent une densité maximale de $2-3 \times 10^9$ cellules/ml

➤ **Lysat cellulaire de Bacille à Gram négatif**

1. Mettre à disposition un bain marie ou un bloc thermique à 55 ° C.
2. Récolter jusqu'à 2×10^9 Gram négatif (~ 1 ml de culture de 24h d'E. coli) par centrifugation. Si vous utilisez un culot cellulaire congelé, passez à l'étape 3.
3. Remettre en suspension le culot cellulaire dans 180 µl de PureLink® Genomic Digestion Buffer. Ajouter 20 µl de protéinase K (fourni avec le kit) pour lyser les cellules. Bien mélanger rapidement en utilisant le vortex.
4. Incuber le tube à 55 ° C sous agitation jusqu'à ce que la lyse soit complète (la solution devient claire) (30 minutes à 4 heures maximum).
5. Ajouter 20 µL RNase A (fourni avec le kit) au lysat, bien mélanger par vortex et incuber à température ambiante pendant 2 minutes.
6. Ajouter 200 µl de PureLink® Genomic Lysis / Binding Buffer et bien mélanger par vortex pour obtenir une solution homogène.
7. Ajouter 200 µl d'éthanol à 96-100% au lysat. Bien mélanger par vortex

pendant 5 secondes, pour donner une solution homogène.

Remarque: Lors du traitement de plusieurs échantillons, vous pouvez préparer un master Buffer / éthanol Mix en mélangeant 200µl Lysis / Binding Buffer et 200µl de l'éthanol 96-100% pour chaque échantillon.

8. Passer à la liaison ADN.

➤ **Liaison de l'ADN**

1. Retirer une colonne de spin PureLink® et le tube de collecte (PureLink® Spin Columns in Collection Tubes) de l'emballage.
2. Ajouter le lysat (~ 640µl) préparé avec PureLink® Genomic Lysis / Binding Tampon et de l'éthanol à la colonne de Spin PureLink®.
3. Centrifuger la colonne à 10.000 x g pendant 1 minute à température ambiante.
4. Jeter le tube de collecte et placer la colonne de spin dans un Tube de Collection PureLink® propre fourni avec le kit.
5. Procéder au lavage de l'ADN.

➤ **Lavage de l'ADN**

1. Ajouter 500 µl de tampon de lavage 1 contenant l'éthanol à la colonne.
2. Centrifuger la colonne à la température ambiante à 10.000 x g pendant 1 minute.
3. Jeter le tube de collecte et placer la colonne de spin dans un tube collecteur PureLink® propre fourni avec le kit.
4. Ajouter 500 µl de tampon de lavage 2 contenant de l'éthanol dans la colonne.
5. Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 3 minutes à la température ambiante. Jeter le tube collecteur.
6. Passez à l'élution ADN.

➤ **Elution de l'ADN**

1. Placer la colonne spin dans un microtube stérile (tube eppendorf) de 1,5 ml.

2. Ajouter 25-200 µl de PureLink® Genomic Elution Buffer à la colonne.

Voir les paramètres d'élution (en fin du protocole) pour choisir le volume d'élution approprié.

3. Incuber à température ambiante pendant 1 minute. Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 1 minute à température ambiante. Le tube contient l'ADN génomique purifié.

4. Pour récupérer plus d'ADN, effectuer une deuxième étape d'élution en utilisant le même volume de tampon d'élution que la première élution dans un autre microtube stérile de 1,5 ml.

5. Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 1,5 minutes à la température ambiante.

Le tube contient de l'ADN purifié. Retirer et jeter la colonne.

➤ **Stockage de l'ADN**

Stocker l'ADN purifié à -20 ° C ou utiliser l'ADN immédiatement.

- Pour le stockage à long terme, stocker l'ADN purifié dans un Tampon d'Elution PureLink® Genomic à -20 ° C car l'ADN stockée dans l'eau peut être soumise à une hydrolyse acide.

- Pour éviter de répéter la congélation et la décongélation de l'ADN, stocker l'ADN purifié à 4 ° C pour une utilisation immédiate ou stocker des aliquots d'ADN à -20 ° C pour l'utilisation à long terme.

➤ Paramètres d'élution

✓ Tampon d'élution

L'ADN génomique est élué en utilisant le tampon d'élution PureLink® genomic (10 mM Tris-HCl, pH 9,0, EDTA 0,1 mM). Alternativement, le tampon Tris (10 mM de Tris-HCl, pH 8,0 à 9,0) ou de l'eau stérile peuvent être utilisées car l'EDTA peut inhiber les réactions en aval.

✓ Volume de tampon d'élution

L'ADN génomique est élué dans 25 à 200 µl (Mini Kit) ou de 50 à 200 µl (96 Kit) de PureLink® Genomic Elution Buffer. Vous pouvez modifier le volume de tampon d'élution pour obtenir de l'ADN génomique de la concentration finale désirée. Utilisez le graphique ci-dessous pour déterminer les conditions d'élution les plus appropriées pour votre application.

Pour obtenir un rendement élevé de l'ADN, utiliser un grand volume de tampon d'élution.

Pour augmenter la concentration d'ADN, utiliser un plus faible volume de tampon d'élution.

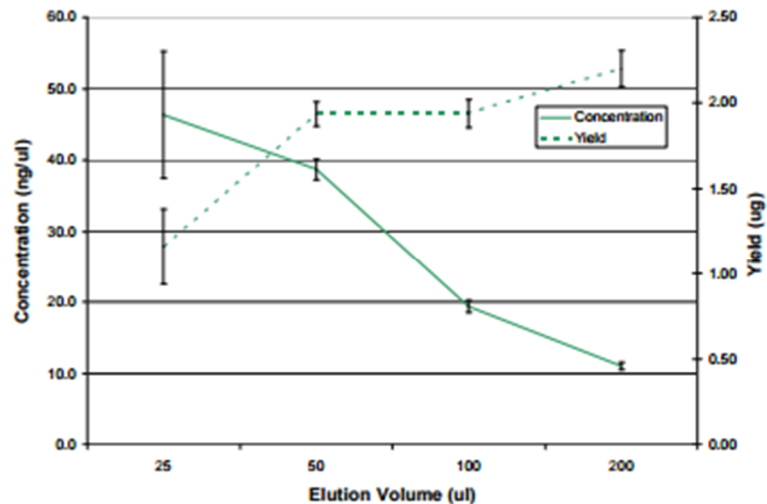


Figure 4 : Concentration d'ADN obtenue en fonction du volume d'élution et rendement de l'extraction

Légende de la figure: on a purifié l'ADN génomique à partir de 100 µl de sang avec le PureLink® genomic Mini Kit ADN en utilisant différents volumes d'élution.

✓ **Nombre de Solutions**

En utilisant 50 µl et 100 µl de tampon d'élution, la première élution récupère environ 80% à 90% de l'ADN génomique. Pour maximiser la récupération de l'ADN génomique, vous pouvez effectuer une deuxième élution pour récupérer le reste de l'ADNg(10-15%).

Pour éviter la dilution de l'ADNg, effectuer la deuxième élution en utilisant le même volume de tampon utilisé pour la première élution.

Il est recommandé d'utiliser des différents tubes pour les deux étapes d'élution.

Remarque: Une quantité suffisante de PureLink® Genomic Elution Buffer est utilisée pour atteindre jusqu'à 2 x 100 µl éluant par échantillon. Si vous souhaitez effectuer > 2 x 100 µl d'éluant par échantillon, vous avez besoin d'acheter PureLink® Genomic Elution Buffer supplémentaire séparément.

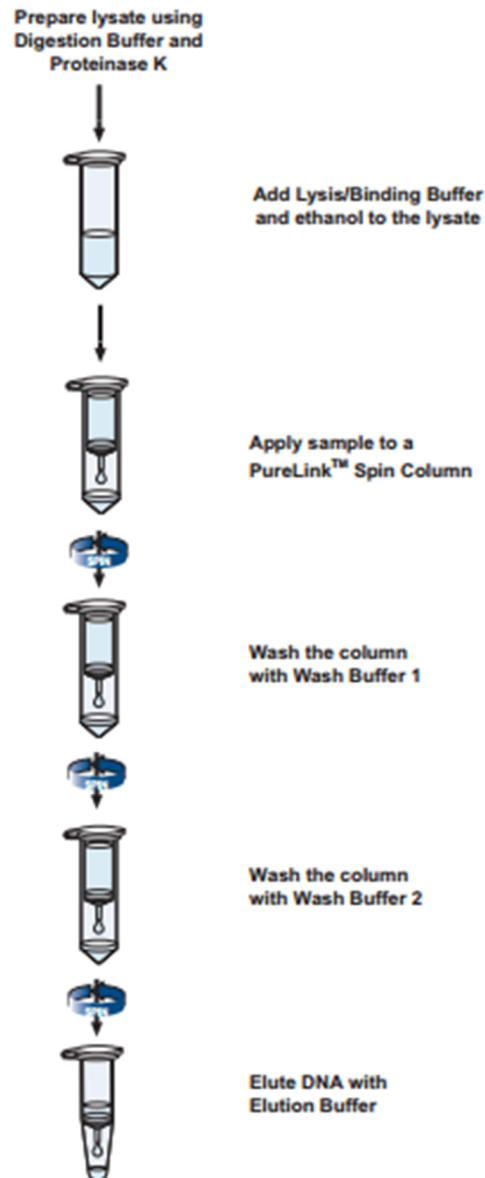


Figure 5: Résumé du protocole d'extraction de l'ADN

2. La PCR proprement dite

Pour l'identification moléculaire des carbapénémases des bactéries de notre échantillon, nous avons réalisé une PCR multiplex classique. Les carbapénémases que nous avons recherchées sont les suivantes :

- Oxa-23
- Oxa-24
- Oxa-51
- Oxa- 58

2.1. Matériels de PCR standard :

- Thermocycleur de type BioRad
- Centrifugeuse
- Micropipettes
- Tubes épendorff
- Embouts
- Plaque chauffante ou microonde
- Eprouvette, Erlenmeyer, ballon
- Balance
- Gants

2.2. Réactifs :

- Marqueur de taille:100 bp ladder
- Une solution de tampon de TBE X0, 5
- Gel d'agarose à 1%
- Les amorces
- dNTP(2,5 mmol / L)

- MgCl₂ (25 mmol / μL),
- Taq ADN polymérase (5U)
- Tampon de PCR
- Eau stérile pour PCR

2.3. Détection des gènes Oxa par PCR

Le milieu réactionnel : volume total de 50 μl

- 4 μl de dNTP (2,5 mmol / L),
- 1 μl de chaque amorce (10 pmol / μL),
- 3 μl de MgCl₂ (25 mmol / μL),
- 0,6μl Taq ADN polymérase (5 U)
- 5 μl tampon (X10) de la Taq polymerase (500 mM KCl; 15 mM MgCl₂ et 100 mM Tris-HCl)
- 3 μl de matrice d'ADN.
- 26,4 μl eau stérile de PCR

2.4. Séquence des amorces

| Gene | Amorce | Séquence | Taille(Pb) |
|----------------|---------------|----------------------|------------|
| blaOXA-51-like | OXA-51-like F | TAATGCTTTGATCGGCCTTG | 353 |
| | OXA-51-like R | TGGATTGCACTTCATCTTGG | |
| blaOXA-23-like | OXA-23-like F | GATCGGATTGGAGAACCAGA | 501 |
| | OXA-23-like R | ATTTCTGACCGCATTTCAT | |
| blaOXA-24-like | OXA-24-like F | TTCCCCTAACATGAATTTGT | 1024 |
| | OXA-24-like R | GTACTAATCAAAGTTGTGAA | |
| blaOXA-58-like | OXA-58-like F | TGGCACGCATTTAGACCG | 507 |
| | OXA-58-like R | AAACCCACATACCAACCC | |

2.5. Les conditions d'amplification :

- Une étape de dénaturation initiale à 94° C pendant 5 minutes
- 30 cycles d'amplification :
 - 25s de dénaturation à 94°C,
 - 52s d'hybridation à 40°C,
 - 50s d'élargissement à 72°C
- et une élargissement finale de 6 min à 72°C.



Figure 6: Thermocycleur utilisé pour la PCR

2.6. Electrophorèse sur gel d'agarose

La qualité de l'extraction de l'ADN sera évaluée par électrophorèse d'un échantillon de 5µl pendant 1h à voltage de 100 V contenant du tampon TBE (TRIS, Borate, EDTA) dans un gel d'agarose à 1,5%.

◆ Protocole de préparation du gel d'agarose

- Dans une bouteille ou flacon en verre stérile, mélanger 6g de poudre d'agarose avec 400ml du Tampon TBE (Tris-Borate-EDTA) 0.5 X.
- Faire fondre le mélange au four à micro-ondes jusqu'à l'obtention d'un mélange parfaitement transparent.
- Laisser refroidir.
- Ajouter la Solution de bromure d'éthidium (BET) (3 fois 31.5 µl pour 50ml) et bien mélanger.
- Couler le gel dans le support du gel après avoir mis les peignes.
- Laisser refroidir jusqu'à solidification du gel.

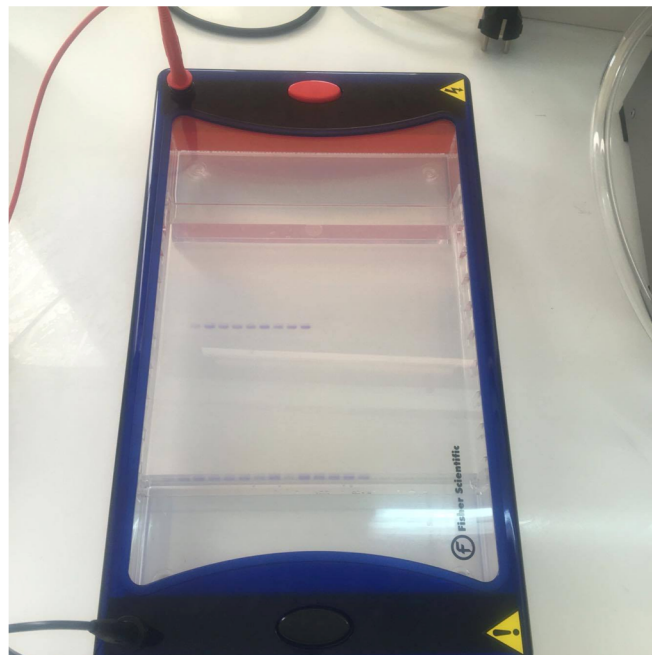


Figure 7: Gel de migration pour l'électrophorèse

◆ **Electrophorèse des produits d'amplification**

- Retirer les peignes après polymérisation du gel.
- Placer le gel dans la cuve d'électrophorèse.
- Remplir la cuve d'électrophorèse avec le tampon TB 0.5X (le gel doit être totalement émergé).
- Déposer 4µl du DNA marqueur de poids moléculaire [100 Base-Paire Ladder] dans le premier puits.
- Mélanger 4 µl du produit amplifié (ADN) avec une goutte du Blue Juice.
- Déposer le produit amplifié avec un témoin négatif et un témoin positif.
- Fermer le couvercle de la cuve. Brancher la cuve au générateur, Mettre l'alimentation sous tension à 100V et régler la durée de migration (environ 1h).
- Une fois la migration finie, Placer le gel dans le système d'imagerie à UV pour la visualisation des bandes. Révélation des bandes d'ADN aux rayons UV.
- La présence de la bande qui correspond au fragment amplifié a été comparée avec le marqueur de poids moléculaire (1000 paires de base) en utilisant les témoins.

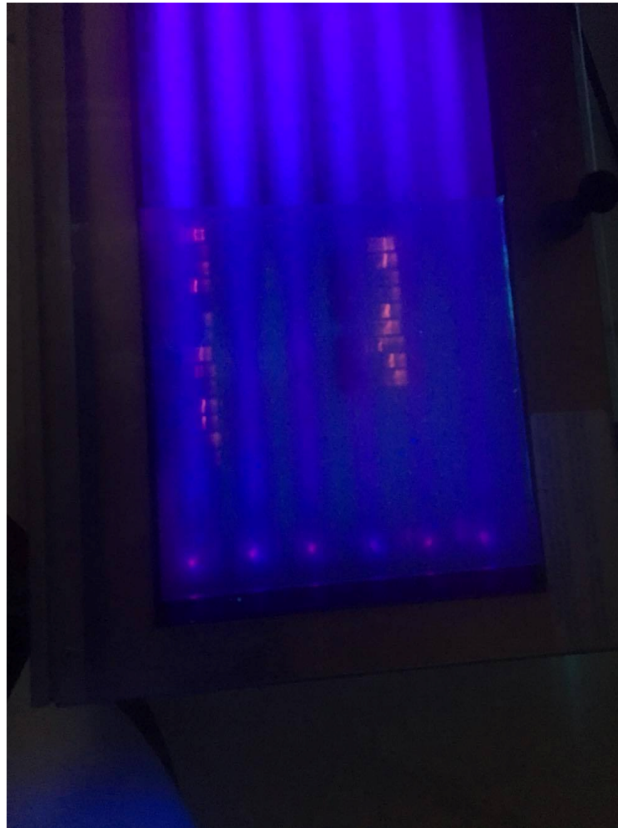


Figure 8: Lecture sous UV après migration



Résultats

I. Résultats de la PCR multiplex

Au total 78 isolats bactériens ont été inclus dans notre étude dont 63 *Acinetobacter baumannii* et 15 entérobactéries.

1. *Acinetobacter baumannii*

Nous avons 63 *Acinetobacter* dans nos isolats. Les résultats de la PCR multiplex classique pour ces bactéries se présentent comme suit :

Tableau VI: Résultats de la PCR multiplex pour *Acinetobacter baumannii* (n=63)

| | OXA-23 | OXA-24 | OXA-51 | OXA-58 |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <i>Positifs</i> | 42 | 2 | 63 | 0 |
| <i>Négatifs</i> | 21 | 61 | 0 | 63 |
| <i>TOTAL</i> | 63 | 63 | 63 | 63 |

2. Entérobactéries

Nous avons 15 Entérobactéries dans nos isolats. Les résultats de la PCR multiplex classique pour ces bactéries se présentent comme suit :

Tableau VII: Résultats de la PCR multiplex pour les entérobactéries (n=15)

| | OXA-23 | OXA-24 | OXA-51 | OXA-58 |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <i>Positifs</i> | 2 | 0 | 5 | 0 |
| <i>Négatifs</i> | 13 | 15 | 10 | 15 |
| <i>TOTAL</i> | 15 | 15 | 15 | 15 |

II. Résultats de la détection de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié

Pour rappel, les vrais positifs sont les résultats révélés positifs par le TH et qui sont aussi positifs à la PCR. Les faux positifs sont les résultats positifs au TH mais qui se sont révélés négatifs à la PCR.

Les vrais négatifs sont les résultats négatifs au TH qui sont aussi négatifs à la PCR. Les faux négatifs sont les résultats négatifs au TH mais qui sont positifs à la PCR

1. *Acinetobacter baumannii*

1.1. Résultats

Ci-dessous les résultats de la détection de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié pour les 63 *Acinetobacter* de notre échantillon :

Tableau VIII: Résultats du Test de Hodge modifié pour *Acinetobacter baumannii* (n=63)

| | Vrais | Faux | TOTAL |
|-----------------|-------|------|-------|
| <i>Positifs</i> | 30 | 10 | 40 |
| <i>Négatifs</i> | 11 | 12 | 23 |
| | | | 63 |

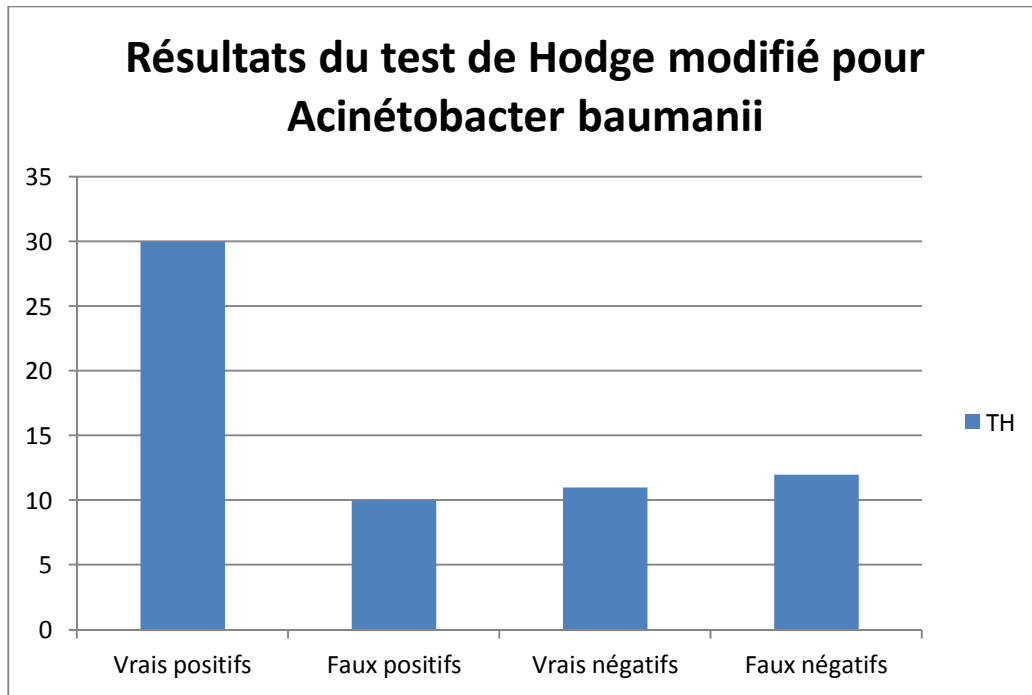


Figure 9 Histogramme des résultats du Test de Hodge modifié pour *Acinetobacter baumannii*

1.2. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives sont les suivantes :

Tableau IX: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Test de Hodge modifié pour *Acinetobacter baumannii*

| | TH |
|--|-------|
| <i>SENSIBILITE</i> | 71,43 |
| <i>SPECIFICITE</i> | 52,38 |
| <i>Valeur prédictive positive</i> | 75 |
| <i>Valeur prédictive négative</i> | 47,83 |

2. Entérobactéries

2.1. Résultats

Pour nos 15 Entérobactéries, les résultats de la détection de la production de carbapénémase par Test de Hodge modifié sont les suivants :

Tableau X: Résultats du Test de Hodge modifié pour les entérobactéries (n=15)

| | Vrais | Faux | TOTAL |
|-----------------|-------|------|-------|
| <i>Positifs</i> | 3 | 5 | 8 |
| <i>Négatifs</i> | 4 | 3 | 7 |
| | | | 15 |

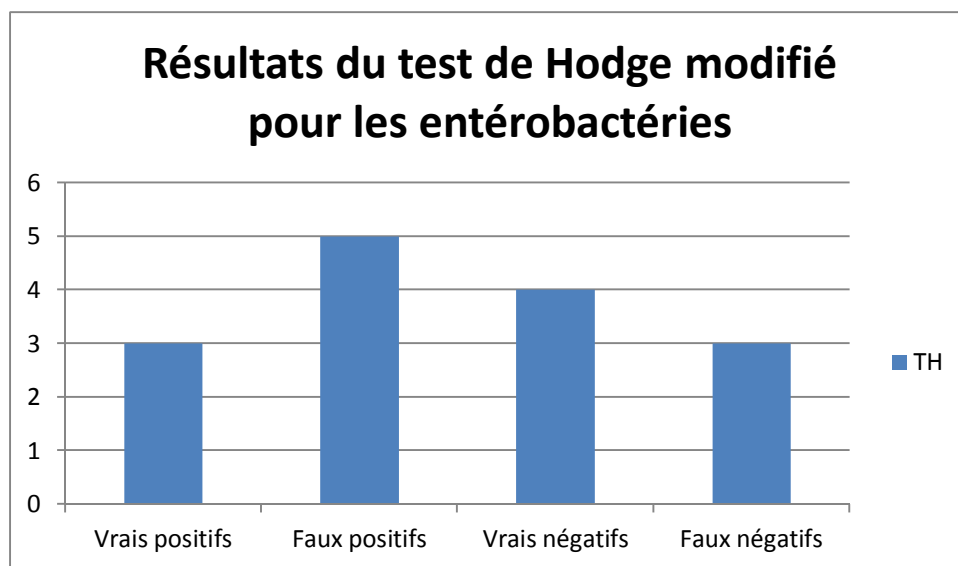


Figure 10: Histogramme des résultats du Test de Hodge modifié pour les entérobactéries

2.2. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives pour le TH chez les Entérobactéries sont les suivantes :

Tableau XI: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Test de Hodge modifié pour les entérobactéries

| | TH |
|-----------------------------------|-------|
| <i>SENSIBILITE</i> | 50 |
| <i>SPECIFICITE</i> | 44,44 |
| <i>Valeur prédictive positive</i> | 37,5 |
| <i>Valeur prédictive négative</i> | 57,14 |

III. Résultats de la détection de la production de carbapénémase par Carba NP Test

Pour rappel, les vrais positifs sont les résultats révélés positifs par le Carba NP Test et qui sont aussi positifs à la PCR. Les faux positifs sont les résultats positifs au Carba NP Test mais qui se sont révélés négatifs à la PCR.

Les vrais négatifs sont les résultats négatifs au Carba NP Test qui sont aussi négatifs à la PCR. Les faux négatifs sont les résultats négatifs au Carba NP Test mais qui sont positifs à la PCR

1. *Acinetobacter baumannii*

1.1. Résultats

Nous avons soumis nos 63 *Acinetobacters* au Carbacinéto NP Test. Les résultats obtenus sont les suivant :

Tableau XII: Résultats du Carba NP Test pour *Acinetobacter baumannii* (n=63)

| | Vrais | Faux | TOTAL |
|-----------------|-------|------|-------|
| <i>Positifs</i> | 36 | 6 | 42 |
| <i>Négatifs</i> | 16 | 5 | 21 |
| | | | 63 |

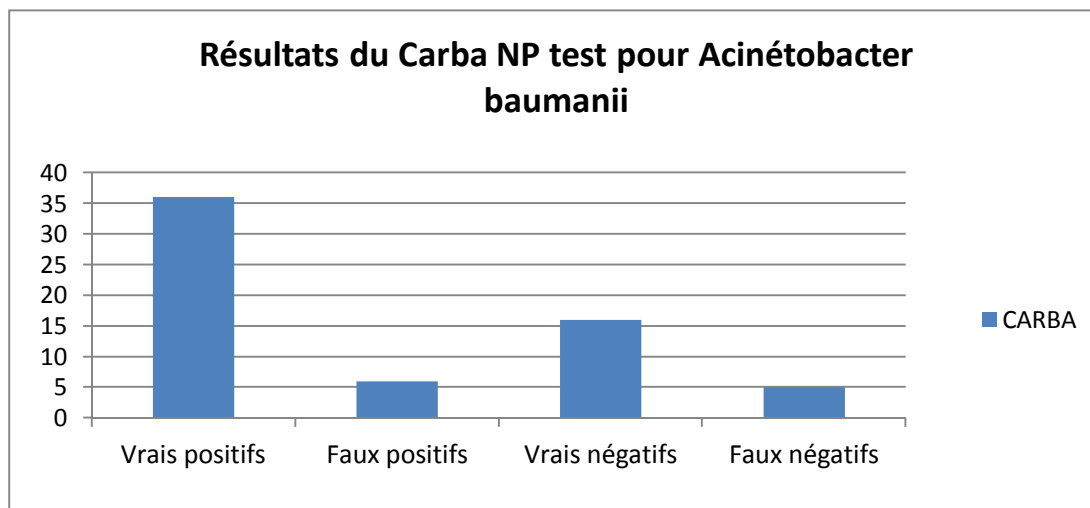


Figure 11: Histogramme des résultats du Carba NP test pour *Acinetobacter baumannii*

1.2. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du Carba NP Test pour les *Acinetobacter* sont les suivants :

Tableau XIII: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Carba NP Test pour *Acinetobacter baumannii*

| | CARBA NP TEST |
|--|---------------|
| <i>SENSIBILITE</i> | 87,8 |
| <i>SPECIFICITE</i> | 72,73 |
| <i>Valeur prédictive positive</i> | 85,71 |
| <i>Valeur prédictive négative</i> | 76,19 |

2. Entérobactéries

2.1. Résultats

Pour nos 15 Entérobactéries, les résultats du Carba NP Test sont les suivants :

Tableau XIV: Résultats du Carba NP Test pour les entérobactéries (n=15)

| | Vrais | Faux | TOTAL |
|-----------------|-------|------|-------|
| <i>Positifs</i> | 7 | 1 | 8 |
| <i>Négatifs</i> | 6 | 1 | 7 |
| | | | 15 |

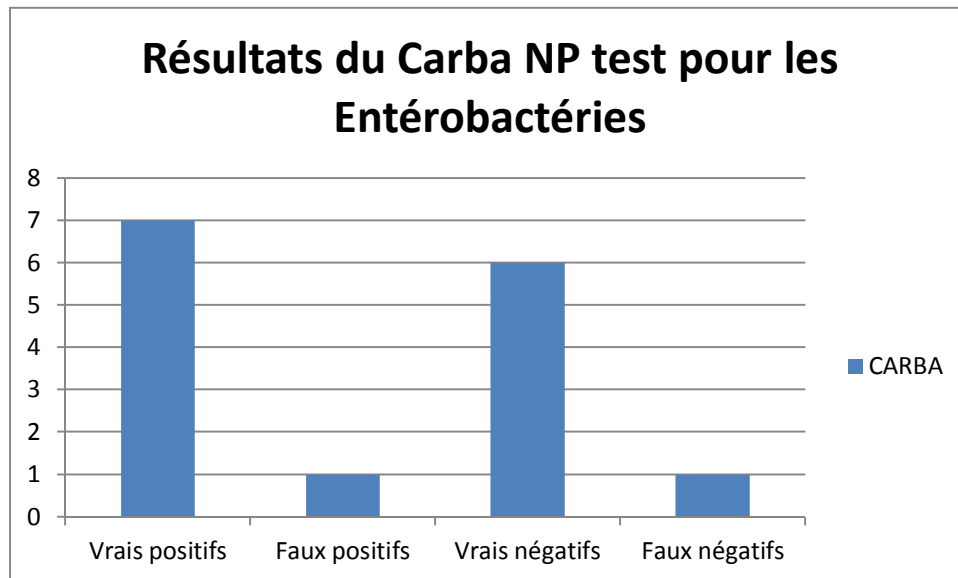


Figure 12: Histogramme des résultats du Carba NP test pour les Entérobactéries

2.2. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du Carba NP Test pour les Entérobactéries sont les suivantes :

Tableau XV: Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du Carba NP Test pour les entérobactéries

| | CARBA NP TEST |
|-----------------------------------|---------------|
| <i>SENSIBILITE</i> | 87,5 |
| <i>SPECIFICITE</i> | 85,71 |
| <i>Valeur prédictive positive</i> | 87,5 |
| <i>Valeur prédictive négative</i> | 85,71 |



Discussion

Partie 1 : Les carbapénèmes

1. Généralités sur les Carbapénèmes

Les carbapénèmes sont une classe d'antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines et ayant le spectre d'activité antimicrobienne le plus large. Les carbapénèmes ont un usage exclusivement hospitalier et sont principalement utilisés dans le traitement des infections à bactéries multirésistantes associées aux soins. Les molécules de cette famille actuellement commercialisées en France sont l'imipénème, l'ertapénème, le méropénème et le doripénème [2].

Au Maroc, seuls l'imipénème et l'ertapénème sont disponibles.

2. Structure chimique des carbapénèmes

Les carbapénèmes utilisés aujourd'hui dérivent de la thiénamycine, molécule isolée en 1976 à partir de *Streptomyces cattleya*. Leur cycle de base diffère de celui des pénicillines « pénams » par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et d'une liaison insaturée en C2-C3, également présente sur les céphalosporines. La stabilité des carbapénèmes aux bêtalactamases est due à la trans-orientation des atomes d'hydrogène en C5 et C6 et à la présence d'une chaîne *hydroxyethyl* en C6 au lieu de la chaîne *acylamino* des pénicillines et des céphalosporines [15].

Des modifications du substituant en position 2 confèrent un gain d'activité *in vitro* au méropénème et au doripénème sur les bacilles à gram négatif.

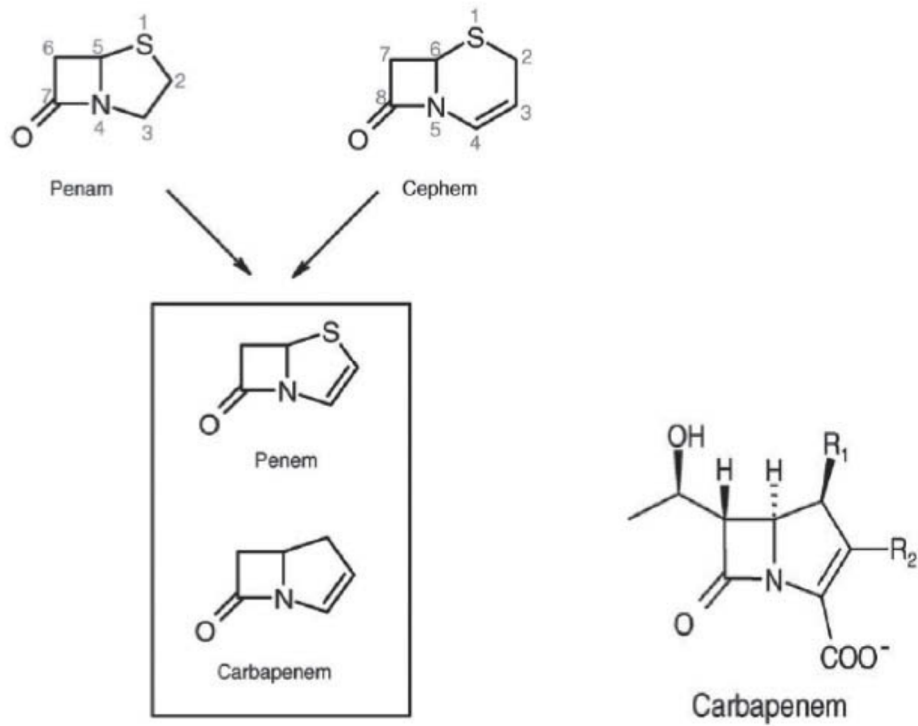


Figure 13 : Structure générale des Carbapénèmes [16]

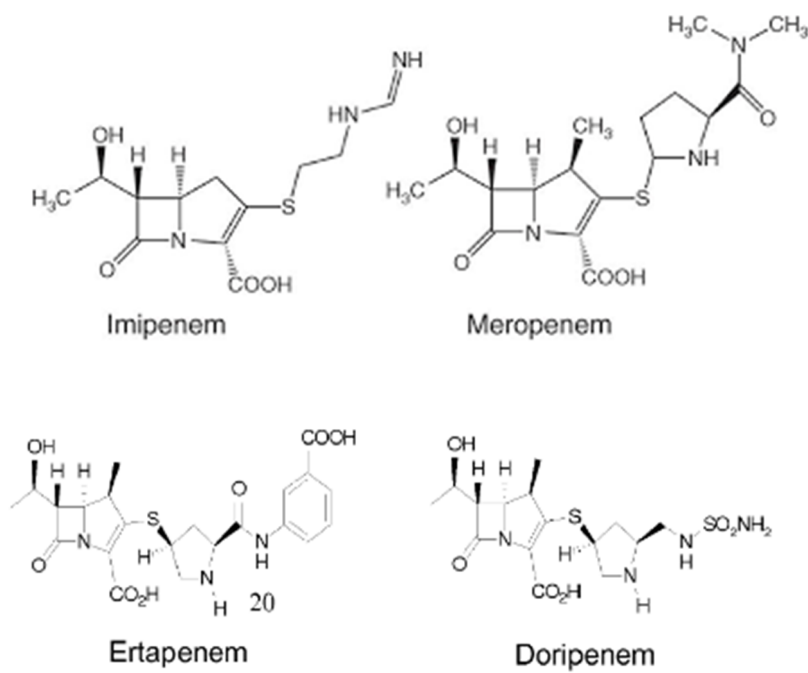


Figure 14: Structures chimiques des carbapénèmes [16]

3. Propriétés pharmacocinétiques des carbapénèmes

Les carbapénèmes doivent être séparés en deux catégories différentes. D'une part, l'ertapénème, fortement liée aux protéines (de l'ordre de 85 à 90%), dont la demi-vie est de quatre heures ce qui permet une administration en une dose quotidienne. D'autre part, l'imipénème, le méropénème et le doripénème dont les pourcentages de liaison sont respectivement 20%, 2% et 9% et la demi-vie de l'ordre d'une heure d'où leur administration en plusieurs doses par jour [17].

Leur diffusion est adéquate dans la majorité des tissus. Mais il existe des variations interindividuelles très importantes et les concentrations tissulaires rapportées dans la littérature sont variables d'une étude à l'autre [17].

Ils ont une élimination essentiellement rénale. En dehors de l'ertapénème (dont seulement 45% sont éliminés sous forme inchangée), les autres carbapénèmes sont majoritairement éliminés sous forme inchangée (de l'ordre de 60 à 75%). Ceci explique les adaptations posologiques ou les précautions d'utilisation, en cas d'insuffisance rénale [17].

Tableau XVI: Propriétés pharmacocinétiques des carbapénèmes [16] [17]

| PROPRIETES | IMIPENEME | MEROPENEME | DORIPENEME | ERTAPENEME |
|--|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Demi-vie T1/2 (H) | 1 | 1 | 1 | 3.8-4.4 |
| Volume de distribution (L/kg) | 0.23-0.31 | 0.23-0.35 | 0.24 | 8.2 |
| %liaison aux protéines plasmatiques | 20 | 2 | 9 | 85-90 |
| Voie d'élimination | Rénale (60-70% actif) | Rénale (70% actif) | Rénale (75% actif) | Rénale (44% actif) |
| Posologie habituelle/24h (g) | 2-3 | 3 | 1.5 | 1 |
| Nombre d'administration/24h | 3 | 3 | 3 | 1 |

4. Mécanisme d'action des carbapénèmes

Comme les autres bêtalactamines, les carbapénèmes exercent leur activité bactéricide en se liant aux protéines de liaison des pénicillines (PLP). Ils induisent ainsi une inhibition de l'étape de transpeptidation nécessaire à la synthèse du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne [1].

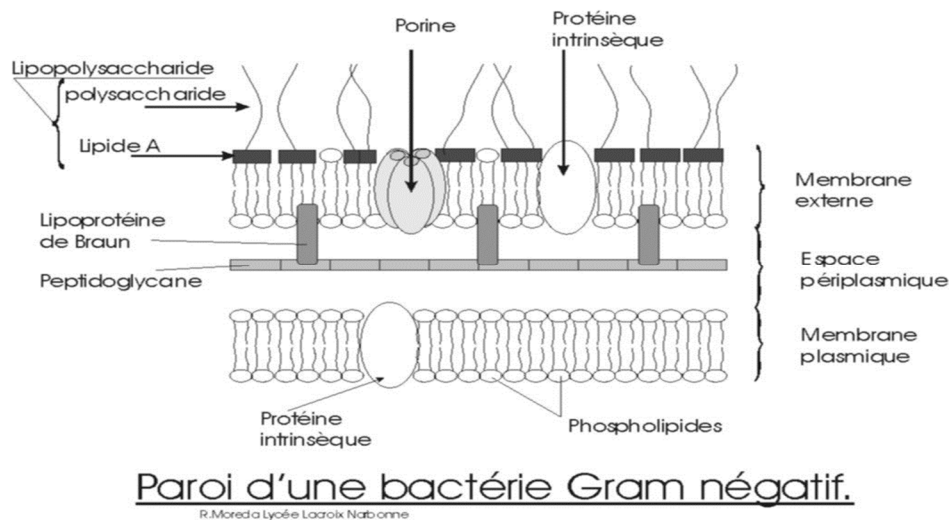


Figure 15: Schéma de la paroi d'une bactérie gram négatif

Contrairement aux céphalosporines et aux aminopénicillines qui se lient principalement à la PLP3, les carbapénèmes ont pour cibles privilégiées les PLP1a, 1b et 2, avec pour conséquence une lyse sans filamentation préalable et une moindre libération d'endotoxine par les bacilles à Gram négatif.

5. Spectre d'activité des carbapénèmes

Les Carbapénèmes sont des antibiotiques à large spectre. Ils ont en commun d'être actifs sur les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif incluant les bactéries aérobies et anaérobies [17].

Vis-à-vis des BGN, les différentes molécules de la classe des carbapénèmes ont un spectre très voisin, à l'exception notable de l'ertapénème qui n'inclue pas dans son spectre les souches de *P.aeruginosa* et *A. baumannii*. Les carbapénèmes sont tous inefficaces sur *Stenotrophomonas maltophilia* (production naturelle d'une métallo-bêta-lactamase [MBL]) [17].

Les carbapénèmes sont tous très actifs sur la plupart des bactéries à gram positif (BGP), avec un léger avantage pour l'imipénème alors que l'ertapénème reste la molécule la moins efficace. Aucun carbapénème n'est actif sur les *Staphylococcus Aureus* Résistants à la Méricilline (SARM) [17]. Concernant les entérocoques, aucun carbapénème n'est actif sur *Enterococcus faecium*, et seul l'imipénème conserve une certaine activité vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* [7].

Très actifs sur les anaérobies à gram négatif, les carbapénèmes sont peu ou pas actifs sur *Clostridium difficile* [17].

Tableau XVII: Spectre d'action des Carbapénèmes

| Forme, affinité tinctoriale et métabolisme | coccis a gram positif et négatif | bacilles a gram négatif | anaerobies |
|---|---|--|---|
| Espèces bactériennes | <ul style="list-style-type: none"> • Staphylocoques, • Streptocoques, • Entérocoques, • Neisseria, • Moraxella cattaeharis | <ul style="list-style-type: none"> • Entérobactéries, • Haemophilus, • Bacilles non fermentant tels que : - Acinetobacter - Pseudomonas | <ul style="list-style-type: none"> • Clostridium, • Bacteriodes, • Fusobacterium |

Partie 2: Mécanismes de résistance des microorganismes aux carbapénèmes

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance aux antibiotiques en général et aux carbapénèmes en particulier : la modification des sites de liaison ciblés par l'antibiotique (Protéines liant les Pénicillines) (i), la réduction de la perméabilité membranaire (ii), la surproduction de différents systèmes à efflux (iii) et la production d'enzymes inactivatrices (iv) [18].

Tableau XVIII: Mécanismes de résistance des bactéries aux carbapénèmes [18]

| Mécanismes de résistance | Conséquences |
|--|---|
| <i>Inhibition enzymatique</i> | Production d'une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique ; Mécanisme de résistance le plus répandu. |
| <i>Réduction de la perméabilité cellulaire</i> | Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible. |
| <i>Altération des sites de liaison ciblés par l'antibiotique</i> | Baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action. |
| <i>Pompes à efflux</i> | Antibiotique éjecté de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible. |

1. Bactéries productrices de carbapénémases

Les bactéries productrices de carbapénémase appartiennent à 2 grandes familles: les Entérobactériacae et les BGN non fermentaires.

Parmi les Entérobactéries, on trouve essentiellement: *E. Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Proteus Providencia* et *Salmonella*

Pour ce qui concerne les BGN non fermentaires, il y a : les *Acinetobacter baumannii*, les *pseudomonas* et le *Stenotrophomonas*.

2. Modification des Protéines Liant les Pénicillines PLP

Ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les β -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les *cocci à gram positif*, comme le *Staphylococcus aureus* et le *Streptococcus pneumoniae*, alors qu'il est beaucoup plus rare chez les bactéries à gram négatif. Parmi les bactéries à gram négatif, la résistance par altération des PLP s'observe chez les espèces du genre *Neisseria* et, plus rarement, chez *Haemophilus influenzae* [18].

Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème et au mércilline ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et à une diminution de la quantité de PLP1a [19]. Cependant, ce type de mécanisme reste très rare chez cette espèce bactérienne. Chez *A. baumannii*, le rôle de la perte ou de la diminution d'expression de la PLP2 dans la résistance aux carbapénèmes a été suggéré [20].

3. Système d'efflux

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de

nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est également possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause de l'exposition à un antibiotique d'une autre classe. Ainsi, on sait que la ciprofloxacine peut favoriser l'émergence d'une résistance à la céphalosporine par la voie de ce mécanisme. Parmi les bactéries d'importance clinique munies d'une pompe à efflux comme mécanisme de résistance, on trouve l'E. Coli et le Shigella [18].

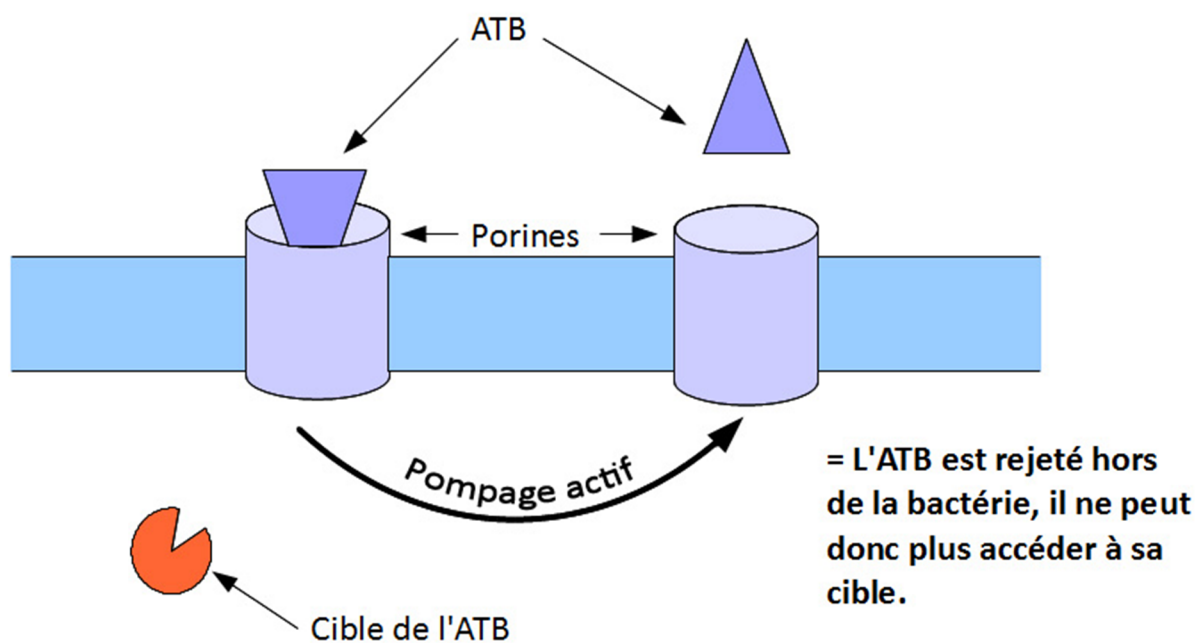


Figure 16: Schéma du mécanisme de résistance aux antibiotiques par système d'efflux

Il existe 5 grandes familles de pompes d'efflux décrites chez les bactéries en général [20]:

- ABC (ATP binding cassette) transporteurs ;
- RND (resistance nodulation cell division) ;
- MFS (major facilitator superfamily) ;
- SMR (small multidrug resistance) ;
- MATE (multiantimicrobial extrusion)

Chez les bactéries à Gram négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe. Les pompes les plus fréquemment rencontrées sont de type RND comme AcrB chez *Escherichia coli* ou MexB chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Chez les bactéries à Gram positif, les systèmes d'efflux ne sont constitués que de la pompe. Les plus étudiés sont les pompes MFS comme NorA ou QacA chez *Staphylococcus aureus* et PmrA chez *Streptococcus pneumoniae*. Quelques transporteurs ont aussi été décrits chez les mycobactéries [20].

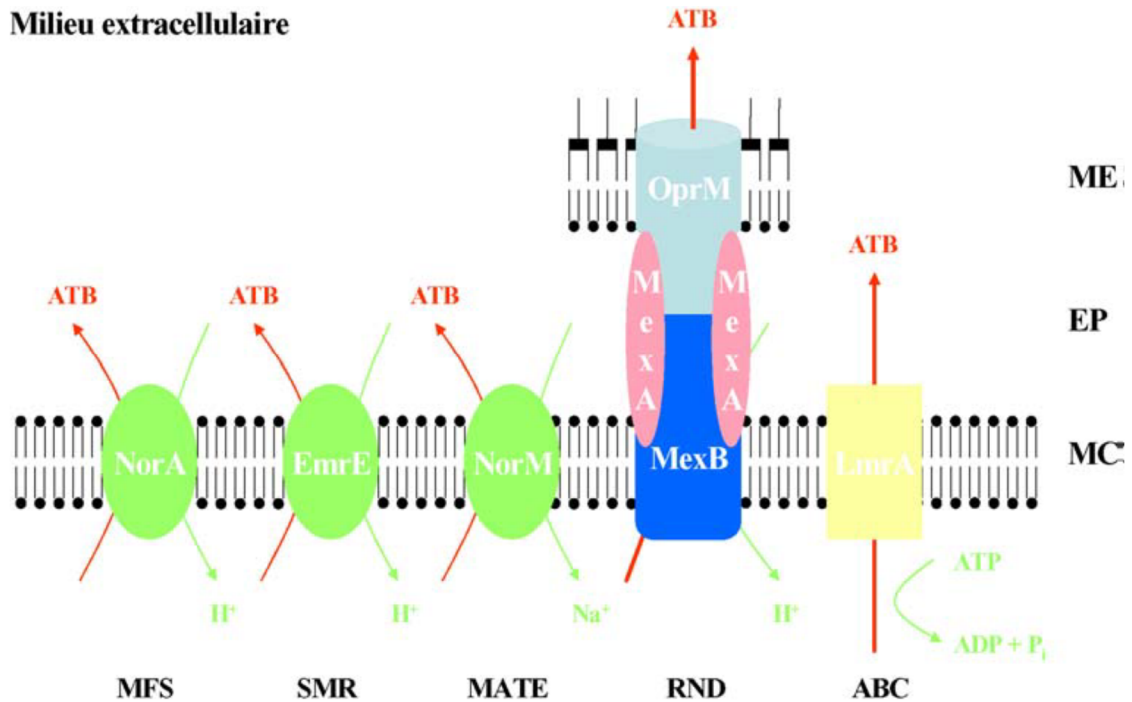


Figure 17: Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux [20]

MFS ou major facilitator superfamily (ex. NorA chez *Staphylococcus aureus*) ;

SMR ou small multidrug resistance (ex. EmrE chez *Escherichia coli*) ;

MATE ou multidrug and toxic compound extrusion (ex. NorM chez *Vibrio parahaemolyticus*) ;

RND ou resistance-nodulation cell division (ex. MexB chez *Pseudomonas aeruginosa*) avec MexA (membrane fusion protein) et OprM (outer membrane factor) ;

ABC ou ATP-binding cassette (ex. LmrA chez *Lactococcus lactis*).

ME, EP : membrane externe et espace périplasmique des bactéries à Gram négatif ;

MC : membrane cytoplasmique ;

ATB : antibiotique substrat.

4. Réduction de la perméabilité membranaire : Porines

Les bactéries à gram négatif sont munies d'une enveloppe qui s'ajoute à la membrane cytoplasmique : la paroi externe. Cette dernière sert de barrière et protège les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) du milieu externe. Les nutriments et les antibiotiques doivent traverser cette enveloppe pour pénétrer dans la bactérie. Le passage se fait par diffusion passive à travers les canaux que forment les protéines caniculaires nommées porines [21,22]. La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie [18].

Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. Cette forme de résistance s'exerce généralement à l'endroit de plusieurs antibiotiques appartenant à plus d'une classe, étant donné que de nombreux médicaments différents peuvent emprunter la même porine [18].

D'autre part, la résistance est spécifique quand un seul agent emprunte cette porine. Par exemple, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine. En effet, la protéine OprF, et la porine OprD1 permettent la diffusion relativement faible de l'imipénème. Par ailleurs, la porine OprD2 assure la diffusion d'acides aminés basiques et de carbapénèmes tels que l'imipénème. L'absence d'OprD2 ou son dysfonctionnement entraîne chez *P. aeruginosa* une résistance sélective aux carbapénèmes [23,24].

5. Inhibition enzymatique : Carbapénémases

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. Les carbapénémases sont les enzymes qui détruisent les carbapénèmes. La résistance enzymatique aux carbapénèmes est généralement liée à la production de carbapénémases [7]. L'émergence de ces enzymes est décrite de façon croissante dans le monde entier et constitue un réel problème pour la santé publique, les carbapénèmes représentant très souvent les dernières molécules actives de l'arsenal thérapeutique pour combattre les bactéries multi résistantes [2]. Par ailleurs, les gènes codant pour ces enzymes sont situés sur des éléments génétiques très mobiles (plasmides, transposons...) qui rendent leur diffusion plus large et leur maîtrise d'autant plus complexe [6]. D'où l'intérêt de détecter les bactéries produisant ces enzymes. En France, ce dépistage inclut les patients à risques (immunodéprimés, greffés, hospitalisation en unité de soins intensifs), mais également les patients transférés d'hôpitaux étrangers ou ayant été hospitalisés à l'étranger dans l'année précédente [8].

Selon la classification d'Ambler, les bêta-lactamases sont regroupées en quatre catégories:

- La classe **A** : pénicillinases de type sérine protéases, inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam;
- La classe **B** : métallo-enzymes, dont le site actif contient un ion zinc, résistantes à l'acide clavulanique mais inhibées par l'EDTA: Acide Ethylène Diamine Tétra acétique;
- La classe **C** : céphalosporinases insensibles à l'acide clavulanique mais inhibées par la cloxacilline et

•La classe **D** : oxacillinases hydrolysant la cloxacilline et peu inhibées par l'acide clavulanique.

On retrouve les carbapénémases au sein des classes A, B et D d'Ambler. Car ils sont définis par la capacité d'hydrolyser au moins un carbapénème et non sur une base structurale [25].

Au Maroc, les carbapénémases décrites à aujourd'hui chez les entérobactéries appartiennent aux classes B et D [6].

5.1. Carbapénémases de Classe A

Les carbapénémases de classe A ont été tout d'abord rapportées dans plusieurs souches d'entérobactéries isolées de l'environnement (*Serratia*, *Enterobacter*), produisant des β -lactamases dont l'activité était inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam [6, 26, 27]. Elles sont essentiellement constituées par les carbapénémases de type KPC qui ont d'abord été décrites sur la côte Est des États Unis en 1996 [28] avant d'être identifiées dans la plupart des états du pays, avec notamment une très forte prévalence dans l'état de New York. Ces souches ont également été décrites en Grèce et en Israël où elles semblent à l'heure actuelle endémiques [29].

Il existe des Carbapénémases de classe A chromosomiques (SME, NMC et IMI) et d'autres de support plasmidique (KPC, GES) [26,30].

Les souches productrices de KPC sont très fréquemment des souches multi résistantes et les options thérapeutiques sont très souvent réduites. De ce fait, la mortalité associée aux infections par les bactéries productrices d'enzyme de type KPC est élevée, très souvent supérieure à 50% [31]. Leurs enzymes plasmidiques leur permettent de diffuser dans de nombreuses espèces comme K.

pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Enterobacter spp., Salmonella spp., et même P. aeruginosa et A. baumannii [32,33].

Les carbapénémases de types KPC ont déjà été détectées au CHU Ibn Rochd de Casablanca (Laalej et al, Laboratoire de Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, 2011).

Les carbapénémases de la classe A ont la particularité de voir leur activité in vitro totalement ou partiellement inhibée par l'acide boronique et l'acide clavulanique. Elles hydrolysent toutes les β -lactamines [2].

5.2. Carbapénémase de Classe B : Métallo β -lactamase (VIM ; IMP ; NDM...)

La première métallo β -lactamase de type IMP a été décrite au Japon en 1991 [34]. Depuis, ce type d'enzyme a diffusé dans le monde entier et les enzymes de type VIM et IMP sont désormais endémiques dans certains pays tels que la Grèce, l'Italie, l'Espagne, Taiwan et le Japon [31].

La plupart des souches productrices de métallo- β -lactamases sont des K. pneumoniae multi résistantes acquises dans les établissements de soins. La mortalité associée à ce type de souches varie de 18 à 67% [31].

Découverte en 2008 en Suède chez un patient d'origine indienne ayant auparavant été hospitalisé à New Delhi, la métallo- β -lactamase NDM-1 a déjà été identifiée sur tous les continents en 2010 à l'exception de l'Amérique du Sud et Centrale. Dans tous les cas, un lien avec un séjour dans le sous-continent indien a été mis en évidence [35]. Plusieurs épidémies ou cas sporadiques ont été décrits en milieu hospitalier ou en milieu communautaire [36]. Ce type d'enzyme a été principalement isolé chez K. pneumoniae, et dans une moindre

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

Les carbapénémases de classe B hydrolysent très fortement toutes les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Leur activité *in vitro* n'est pas affectée par les inhibiteurs suicides de β -lactamases (acide clavulanique et tazobactam). Ce sont des métallo-enzymes qui contiennent un ion zinc dans leur site actif expliquant l'inhibition de leur activité par l'EDTA (chélateur des cations divalents) ou l'acide dipicolinique [2].

Le niveau de résistance aux carbapénèmes est là aussi variable. Cependant les plasmides porteurs du gène blaNDM-1 comportent très souvent plusieurs autres gènes de résistance ce qui conduit au final à une multi résistance voire à une toto-résistance des souches [31].

Sur le plan génétique, les études montrent que ces gènes KPC sont localisés sur une variété importante de plasmides mais qu'ils sont associés à des transposons de même nature de type Tn3. La mobilité de ces plasmides et transposons contribuerait fortement à la diffusion inter espèces de ces gènes KPC.

L'association des gènes KPC à d'autres gènes de résistance aux antibiotiques sur de mêmes structures génétiques explique en grande partie la multi résistance de ces souches.

5.3. Carbapénémase de Classe D : oxacillinases (OXA-48, OXA-163, OXA-181...)

Il existe neuf sous-groupes de carbapénémases de classe D, basés sur l'homologie des séquences protéiques (OXA-23, OXA-51, OXA-24, OXA-58, OXA-48, OXA-55, OXA-50, OXA-62 et OXA-60).

OXA-48, a été décrite pour la première fois en Turquie chez *K. pneumoniae* [37]. Depuis, les bactéries productrices d'oxacillinases, notamment OXA-48, ont très largement émergé dans tous les pays du pourtour méditerranéen et en Afrique [31]. Plus récemment, des souches produisant une oxacillinase similaire, OXA-181, ont été isolées en Inde ou chez des patients d'origine indienne [38].

À l'inverse des autres carbapénémases de type OXA, principalement retrouvées chez *Acinetobacter* spp, le groupe OXA-48 n'a été décrit que chez les entérobactéries notamment *K. pneumoniae*.

La première carbapénémase de classe D décrite au Maroc est une OXA-48. Elle a été décrite par Benouda et al en 2009 [5]. Depuis ce mécanisme de résistance aux carbapénèmes a connu une dissémination nosocomiale importante à travers diverses espèces bactériennes, suggérant un état endémique [6].

En 2011, une étude menée au CHU Ibn Rochd de Casablanca a révélé la présence de bactéries productrices de carbapénémases de type MBL (Laalej et al, Laboratoire de Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, 2011).

De même, des études rapportent des cas d'entérobactéries OXA-48 positives chez des patients transférés dans différents hôpitaux en France et en Belgique après un séjour hospitalier au Maroc [39,40].

Les carbapénémases de classe D hydrolysent fortement les pénicillines et plus faiblement les carbapénèmes ainsi que les céphalosporines de 3^{ème} génération. Elles ne sont pas sensibles aux inhibiteurs de β -lactamase. Toutefois, le niveau de résistance aux carbapénèmes est plus élevé lorsqu'elles sont associées à une BLSE et à un défaut de perméabilité membranaire [41].

Tableau XIX: Principales carbapénémases acquises chez les bacilles à Gram négatif et leur diffusion géographique [7]

| Symbole | Nom | Espèces Impliquées | Diffusion Géographique | Support Génétique |
|-----------------|--|--|---|-------------------|
| Classe A | | | | |
| GES | Guiana Extended Spectrum | Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> | Europe, Amérique du sud, Asie, Afrique | C, P |
| IMI | Imipenem-hydrolyzing Bêta-lactamase | Entérobactéries | Amérique du Nord, Asie | C, P |
| KPC | Klebsiella pneumoniae carbapenemase | Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> | Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie | P |
| NMC | Not metalloenzyme carbapenemase | Entérobactéries | Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud | C |
| SME | Serratia marcescens enzyme | Entérobactéries | Europe, Amérique du Nord | C |
| Classe B | | | | |
| GIM | German imipenemase | <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> | Europe | P |
| IMP | Active on imipenem | Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> | Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie | P |
| NDM | New Delhi metallo-bêta-lactamase | Entérobactéries, <i>Acinetobacter</i> | Europe, Amérique du Nord, Asie, Australie, Afrique | P |
| SIM | Seoul imipenemase | <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> | Asie, | ? |
| SPM | Sao Paulo metallo-bêta-lactamase | | Amérique du Sud | P |
| VIM | Verona integron-encoded metallo-bêta-lactamase | Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> | Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie, Afrique | C, P |
| Classe D | | | | |
| OXA-48 | Oxacillinase | Entérobactéries | Europe, Amérique du Sud, Asie, Afrique | P |
| OXA-23 | Oxacillinase | Entérobactéries, <i>Acinetobacter</i> | Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie, Afrique | C, P |

P : support plasmidique; **C**: support chromosomique.

Partie 3: Méthodes de détection des carbapénémases

En pratique courante au sein des laboratoires de microbiologie, c'est après avoir remarqué une réduction du diamètre d'inhibition autour d'un disque de carbapénème, que l'on se sert de différentes méthodes pour identifier éventuellement une production de carbapénémase [2]. Ces méthodes sont soit phénotypiques, soit génotypiques (moléculaires).

1. Méthodes Phénotypiques

Il existe plusieurs méthodes phénotypiques de détection des bactéries productrices de carbapénémases. On peut citer le Test de Hodge modifié, la méthode des E-tests ou disques combinés et les tests biochimiques de détection des carbapénémases dont le Carba NP Test.

1.1. Test de Hodge modifié

La version modifiée du test de Hodge, test phénotypique initialement mis au point pour permettre la détection de pénicillinases, est largement utilisée pour la détection des carbapénémases. Ce test est sensible pour la détection des carbapénémases, mais ne fournit pas d'information sur le type de carbapénémase mis en cause.

Il est basé sur l'inactivation d'un carbapénème par un organisme producteur de carbapénémase, qui permet à une souche indicatrice sensible aux carbapénèmes de croître à proximité d'un disque de carbapénème le long d'une strie de la souche productrice de carbapénémases [42].

La pousse d'E. Coli ATCC 25922 (souche indicatrice sensible aux carbapénèmes) à proximité du disque de carbapénèmes autour de la strie de la

souche suspecte réalise une image de dépression dans la gélose signalant une activité carbapénémase. A l'inverse, si la pousse d'E. coli ATCC 25922 continue à être inhibée même en présence de la souche suspecte (zone d'inhibition parallèle à la strie réalisée) le résultat du test est négatif [6].

Les inconvénients de cette méthode [14] sont sa durée (24-48 h), son manque de spécificité (nombreux faux positifs pour les souches hyperproductrices d'AmpC ou de CTX-M) et de sensibilité (difficulté de détection des souches productrices de NDM). Elle nécessite donc une certaine expérience. L'addition de zinc dans le milieu gélosé augmente sa sensibilité [43]. Elle peut être intéressante pour cibler les souches lors de suspicion ou d'épidémie avérée.

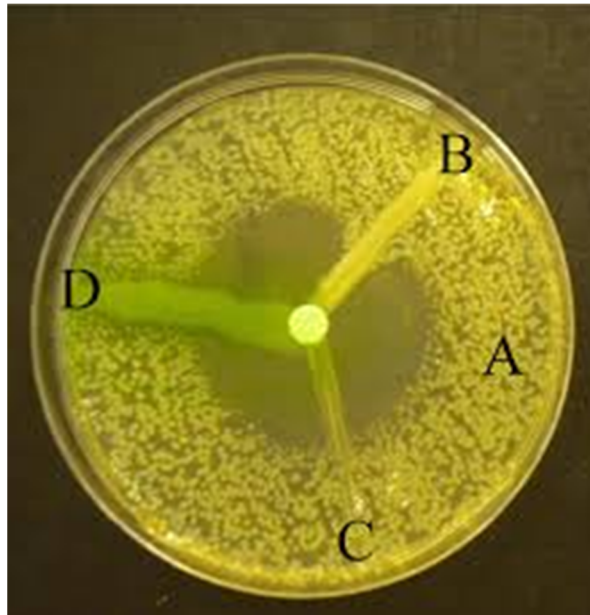


Figure 18: Test de Hodge modifié [7]

A. *Escherichia coli* sauvage (souche indicatrice). B. *Klebsiella pneumoniae* productrice de OXA-48 (témoin positif). C. *Enterococcus faecium* (témoin négatif). D. souche testée (*Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes par perte de la porine D2 et hyperproduction de céphalosporinase).

Chez *Acinetobacter baumannii*, les résultats issus du test de Hodge modifié (tableau VIII) montrent une proportion élevée de vrais positifs par rapport aux faux positifs (30 VP contre 10 FP). Les chiffres concernant les négatifs sont à peu près les mêmes aussi bien chez les vrais que chez les faux (11 VN et 12 FN).

La sensibilité du test de Hodge modifié pour *Acinetobacter baumannii* est élevée. En revanche, sa spécificité est moyenne (tableau IX). On conclue alors que chez *Acinetobacter baumannii*, le test de Hodge modifié permet une bonne détection des producteurs de carbapénémases et est un peu moins efficace dans la détection des bactéries non productrices de carbapénémases.

L'étude menée par Girlich et al a révélé une sensibilité semblable à notre étude (71,48%) et une spécificité plus faible que la nôtre qui est de 52,38% pour le test de Hodge modifié. (Sensibilité : 77,4% et spécificité : 38,9%) [43]. On note tout de même une faible spécificité pour les deux études.

La détermination de la Valeur Prédictive Positive (VPP) et de la Valeur Prédictive Négative (VPN) (tableau IX) nous permet de conclure ce qui suit:

- Un résultat positif au test de Hodge modifié signifie une probabilité élevée de production de carbapénémase chez la bactérie.
- Un résultat négatif au test de Hodge modifié traduit une probabilité moyenne que la bactérie en question ne produise pas de carbapénémase.

En conclusion, il faut donc trouver une technique qui permettrait des résultats meilleurs en l'occurrence une meilleure identification des *Acinetobacters* non producteurs de carbapénémase pour faciliter le dépistage des *Acinetobacters baumannii* producteurs de carbapénémases dans les laboratoires de bactériologie.

L'analyse des résultats du test de Hodge modifié pour les entérobactéries révèle que 5 sur les 8 résultats positifs sont en effet de faux positifs ; le 3 autres étant de réels producteurs de carbapénémase. On note également 4 faux négatifs et 3 vrais négatifs (tableau X). On observe donc une forte proportion de faux positifs de même que quelques faux négatifs dans l'utilisation du TH pour la recherche des bactéries productrices de carbapénémases chez les entérobactéries.

Il en découle une sensibilité de 50% et une spécificité de 44,44% (tableau X). Ainsi, le Test de Hodge modifié que nous avons réalisé est moyennement efficace pour détecter les entérobactéries productrices de carbapénémases. Aussi Il nous a permis une identification assez faible des bactéries non productrices de carbapénémases.

Ces conclusions rejoignent les affirmations de P. Nordmann et al qui ont souligné parmi les inconvénients du test de Hodge modifié son manque de spécificité en ce qui concerne les entérobactéries [14]. Dans notre cas nous remarquons effectivement un manque de spécificité.

La détermination de la Valeur Prédictive Positive (VPP) égale à 37,5 et de la Valeur Prédictive Négative (VPN) qui est de 57,14 nous permet de conclure :

- Un résultat positif au test de Hodge modifié signifie une probabilité faible que l'entérobactérie en question produise une carbapénémase.
- Un résultat négatif au test de Hodge modifié traduit une probabilité moyenne que la bactérie en question ne produise pas de carbapénémase.

Tout ce qui précède remet en cause la pertinence de l'utilisation du test de Hodge modifié dans la détection des entérobactéries productrices de

carbapénémase. Une alternative qui donne des résultats plus fiables c'est-à-dire, une sensibilité et une spécificité plus élevées est nécessaire. Ceci donc montre tout l'intérêt de notre étude dans l'exploration d'autres techniques pouvant donner de meilleurs résultats.

1.2. Méthode des E-tests ou disques combinés

Cette méthode est basée sur la synergie entre les inhibiteurs de MBL comme l'EDTA, et les carbapénèmes. Les E-tests permettent la détection spécifique des producteurs de MBL. Cette méthode peut être réalisée à partir de disques (test de synergie sur doubles disques ou test de disque combiné) ou en utilisant les bandelettes commercialisées E-test MBL (Biomérieux, France). Ce test est basé sur la possibilité qu'à l'EDTA de complexer le zinc et par conséquent d'inhiber l'action de l'enzyme.

D'autres bandelettes existent combinant le méropénème et l'acide boronique. Basées sur l'effet inhibiteur de l'acide boronique et bien que le mécanisme d'inhibition ne soit pas connu, elles montrent une très bonne sensibilité dans la détection de souches productrices de KPC ou autres carbapénémases de classe A [42].

1.3. Tests biochimiques de détection de la production d'une carbapénémase

Deux techniques, répondant bien aux besoins actuels, ont été mises au point récemment. La première correspond à la recherche d'une modification du spectre d'un carbapénème sous l'effet d'une carbapénémase. Il s'agit d'une application de la technique de spectrométrie de masse (MALDI-TOF). Cette technique nécessite une mise au point fine, du personnel particulièrement

entraîné et un spectromètre de masse (système ouvert). Cette technique est basée sur la détection par spectrométrie de masse, après mise en contact pendant quelques heures (en général 2-3h) de la souche à tester avec une solution de carbapénème, de la disparition du pic correspondant au carbapénème testé et de l'apparition d'un pic correspondant au(x) produit(s) d'hydrolyse de ce même carbapénème [44].

La seconde technique de diagnostic rapide est celle sur laquelle porte notre étude : le **Carba NP test** (Carba Nordmann-Poirel test). Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénémase. Il possède une excellente spécificité et une excellente sensibilité [45,46].

Les avantages du Carba NP Test sont [44]:

- ✓ Peu coûteux
- ✓ Peut être réalisé sur les souches isolées voir directement à partir des hémocultures positives
- ✓ Facile à mettre en place dans n'importe quel laboratoire (nécessite peu de moyens : matériels et réactifs)
- ✓ Sensible et spécifique (100%)
- ✓ Rapide (< 2h) sur souches isolées
- ✓ Excellente sensibilité et spécificité de détection de toutes les carbapénémases.

L'inconvénient du Carba NP Test est la nécessité de mettre au point la technique au laboratoire

A cause de la faible perméabilité intrinsèque aux *Acinétobacters*, la détection de la production de carbapénémase est considérée comme étant plus difficile que chez les entérobactéries et *Pseudomonas* [47].

De plus, le niveau d'hydrolyse de l'imipénème par les CHDL (qui sont les carbapénémases que les *Acinétobacters* produisent en majorité) est trop bas pour être détecté par le Carba NP Test. En effet les CHDL produisent une faible quantité de carbapénémase et vu l'effet du tampon de lyse, on n'arrive pas à obtenir le virage de l'indicateur coloré [12].

Ce sont les raisons pour lesquelles le Carba NP Test dans sa version initiale n'est pas utilisée pour la recherche des carbapénémases pour les *Acinétobacter* [12].

Par conséquent pour les *Acinétobacter baumannii*, nous avons utilisé le Carbacinéto NP test qui ne diffère du Carba NP Test que par une modification des conditions de lyse bactérienne et une augmentation de l'inoculum bactérien. En effet le tampon de lyse est ici remplacé par une solution de NaCl 5M [12].

L'utilisation d'une solution de NaCl 5M présente deux avantages :

→ Elle permet d'une part d'éviter l'effet de la solution tampon qui empêche le virage de l'indicateur coloré pour de faibles variations de pH (dans notre cas faible libération de carbapénémase car CHDL chez *Acinétobacters*)

→ D'autre part la solution étant très concentrée on obtient la lyse bactérienne par effet hyper osmotique

En définitive avec le Carbacinéto NP Test, on a une bonne lyse bactérienne donc une bonne libération des carbapénémases et le virage de l'indicateur coloré n'est pas empêché par la solution tampon.

Les résultats du Carba NP Test chez *Acinetobacter baumannii* (tableau XII) montrent plus de VP que de FP (36 VP et 6 FP). On a aussi plus de VN que de FN (16 VN et 5 FN).

Les calculs des paramètres statistiques d'interprétation (tableau XIII) montrent une sensibilité très élevée (87,8) de même que la spécificité (72,73). Le Carba NP Test permet donc une très bonne détection des *Acinetobacters* producteurs de carbapénémase. Il est aussi très efficace dans la détection des *Acinetobacters* non producteurs de carbapénémases même si cette efficacité semble un peu en dessous de la détection des *Acinetobacter* producteurs de carbapénémases (spécificité un peu plus basse que sensibilité).

Le calcul de la VPP (85,71) et de la VPN (76,19) montre :

- Une forte probabilité que l'*Acinetobacter* produise réellement une carbapénémase lorsque le résultat est positif ;
- Une probabilité également forte que l'*Acinetobacter* ne produise pas de carbapénémase lorsque le résultat est négatif.

La littérature rapporte une sensibilité de 94.7% et une spécificité de 100% pour le CarbAcinéto NP Test [12]. Même si nos résultats ne sont pas exactement les mêmes, nous avons obtenu des chiffres assez proches.

Sur les 8 entérobactéries qui se sont révélées positives au Carba NP Test, 7 sont réellement productrices de carbapénémases (tableau XIV). Pour ce qui concerne les 7 entérobactéries que le test a révélées non productrices de carbapénémases, 6 sont de vrais négatifs contre 01 faux négatif (tableau XIV).

En conséquence nous avons obtenu une sensibilité très élevée (87,5) et une spécificité très élevée aussi (85,71). Nous en retenons que Le Carba NP Test permet une très bonne détection aussi bien des entérobactéries productrices que non productrices de carbapénémases.

Notons cependant dans la littérature, on rapporte une sensibilité et une spécificité de 100% pour le Carba NP Test pour les entérobactéries [46,48].

La VPP est de 87,5 et la VPN de 85,71. On peut donc conclure que:

- Lorsque le résultat est positif, la probabilité que l'entérobactérie produise réellement une carbapénémase est très forte ;
- Lorsque le résultat est négatif, la probabilité que l'entérobactérie ne produise pas de carbapénémase est aussi très forte.

1.4. Méthode de dépistage : milieu gélosé avec inhibiteurs

Des milieux gélosés spécifiques ont récemment été commercialisés dans le but de permettre une détection simple et rapide des EPC, notamment dans le cadre de prélèvements de dépistage [14].

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

D'autres milieux contenant des carbapénèmes ont été commercialisés (par exemple le milieu Chromagar KPC®, Chromagar).

Toutefois, ce type de milieu manque souvent de spécificité [49].

Deux milieux spécifiques des carbapénémases (notamment des souches productrices d'OXA-48) ont été développés : un par la société Oxoid (Brilliance CRE®), l'autre par le Pr Nordmann (SUPERCARBA®) contenant de la cloxacilline, du zinc et un carbapénème [50].

L'expression des carbapénémases étant variable, aucun milieu gélosé disponible n'a fait preuve à la fois d'une excellente spécificité et d'une excellente sensibilité de détection. C'est pourquoi l'utilisation de ces milieux doit être couplée à d'autres méthodes de détection des carbapénémases avant de pouvoir conclure.

2. Méthodes Moléculaires

Seules les méthodes moléculaires (PCR \pm séquençage ou hybridation sur puces à ADN) permettent, à l'heure actuelle, de caractériser de façon précise les enzymes produites. Par ailleurs Les carbapénémases de classe D n'étant pas détectées par les méthodes phénotypiques, tout résultat ne confirmant pas la présence d'une enzyme de classe A ou B doit être explorée par biologie moléculaire [51].

Ces méthodes sont réalisées en routine dans certains laboratoires cliniques spécialisés ou non, pour pallier aux problèmes de la détection phénotypique des micro-organismes producteurs de carbapénémase. Des kits commerciaux existent et permettent la détection des gènes codant les carbapénémases, y compris directement à partir des échantillons cliniques (ex : GenXpert Carba-R, Cepheid ; Check-Direct, Check-points).

La PCR multiplex est la méthode de référence que nous avons utilisée pour notre étude. Nous aurions aimé étendre notre PCR multiplex à d'autres carbapénémases notamment celles des classes A et B mais vu que nous ne disposons pas d'amorces des carbapénémases de ces deux classes, nous n'avons effectué que la recherche de 4 types de carbapénémases de classe D. Il s'agit de : OXA-23, OXA-24, OXA-51 et OXA-58.

L'étude des résultats concernant le gène OXA-23 révèle que l'on le retrouve aussi bien chez les *Acinetobacter baumannii* que chez les entérobactéries (tableaux VI et VII). Ce constat confirme l'étude de Grall et al concernant les espèces concernées par cette carbapénémase [7].

Notre étude n'a identifié aucune entérobactérie productrice de carbapénémase de type OXA-24 (tableau VI). Les deux positives que nous avons identifiées étaient toutes produites par des *Acinetobacter baumannii* (tableau VI). Les données de la littérature ne signalent justement OXA-24 que chez les *Acinetobacter baumannii* [52,53].

Dans la littérature, le gène OXA-51 ne traduit pas une production de carbapénémase. En effet, ces enzymes sont codées par un gène chromosomal intrinsèque aux *Acinetobacter baumannii*. Ce critère est donc utilisé pour identifier les *Acinetobacter baumannii* [11]. Ceci nous a permis une confirmation de l'identification de nos *Acinetobacter baumannii*. En effet tous les *Acinetobacter baumannii* de notre série produisent cette enzyme (tableau VI). Cependant nous avons obtenu des résultats positifs à cette enzyme chez 5 des 15 entérobactéries de notre échantillon (tableau VII). Ces résultats contradictoires avec l'affirmation précédente (OXA-51 intrinsèque aux *Acinetobacter baumannii*) implique deux hypothèses. La première serait une erreur de

manipulation de notre part. La seconde serait que certaines entérobactéries ont acquis la capacité de produire ce type d'enzyme. Des travaux approfondis sur la recherche des enzymes de type OXA-51 chez les entérobactéries permettraient d'éclairer cette énigme.

Toutes les souches bactériennes incluses dans notre étude se sont révélées négatives à la recherche d'Oxa-58 (tableaux VI et VII). Cependant nous avons noté que cette enzyme a été décrite chez *Acinetobacter baumannii* [54]. Nous en tirons comme information que cette carbapénémase n'est pas produite par les bactéries que l'on retrouve au sein de l'HMIMV de Rabat.

De tous les gènes recherchés au cours de notre étude, seul OXA-23 se retrouve aussi bien chez les entérobactéries que chez les *Acinétobacter*.

En définitive, la PCR multiplex que nous avons réalisé dans le cadre de notre étude a révélé que 44 produisaient une carbapénémase dont 42 *Acinétobacters baumannii* (sur un total de 63 *Acinétobacters baumannii*) et 2 entérobactéries (sur un total de 15 entérobactéries).

3. Comparaison entre le Test de Hodge modifié et le Carba NP Test

Chez *Acinetobacter*, la comparaison des résultats des 2 tests montre que le Carba NP Test donne de meilleurs résultats. Aussi bien les valeurs de la sensibilité, de la spécificité, de la VPP que celle de la VPN du Carba NP Test sont supérieures à celles du test de Hodge modifié pour *Acinetobacter baumannii* (tableau XIII et XV).

Chez *Acinetobacter baumannii* le Carba NP Test permet donc une meilleure détection des bactéries produisant une carbapénémase et de celles qui n'en produisent pas. Le fait que les valeurs de la VPP et de la VPN du Carba NP Test soient supérieures à celles du Test de Hodge modifié montre que les résultats issus du Carba NP Test sont plus probables d'être réels que ceux donnés par le Test de Hodge modifié.

Pour ce qui concerne les entérobactéries, on remarque également de meilleures performances du Carba NP Test avec une sensibilité et une spécificité toutes les 2 supérieures à 85%, contre une sensibilité et une spécificité faibles pour le Test de Hodge modifié. Le Carba NP Test est meilleur que le Test de Hodge modifié dans la détection des entérobactéries productrices de carbapénémases et des entérobactéries non productrices de carbapénémases.

Lorsqu'on compare également les VPP et les VPN des deux tests, les valeurs de la VPP et de la VPN du Carba NP Test sont nettement supérieures à celles du Test de Hodge modifié. Ceci implique donc que les résultats donnés par le Carba NP Test sont de loin plus probables donc plus fiables que les résultats donnés par le Test de Hodge modifié.

Ainsi, aussi bien chez les *Acinétobacters* que chez les entérobactéries, nous constatons globalement de meilleurs résultats pour le Carba NP Test.

En conclusion, ces tests ont montré que le Carba NP Test est plus performant que le Test de Hodge modifié dans la recherche des bactéries productrices de carbapénémase. Il permet une meilleure détection des bactéries qui produisent des carbapénémases et aussi une meilleure détection des bactéries qui n'en produisent pas.

Cependant, nos résultats ne sont pas identiques à ceux des études réalisées dans d'autres pays. En effet selon Nordmann et al, le Carba NP Test présente une sensibilité et une spécificité de 100% pour les entérobactéries [10] alors que selon Dortet et al, la sensibilité est de 94,7% et la spécificité de 100% pour le Carbacinéto NP Test [12].

La différence entre ces résultats et les nôtres peut s'expliquer par le fait que vu que nous avons des moyens limités, nous n'avons pas pu rechercher tous les gènes impliqués dans la production de carbapénémases lors de la PCR. En effet il nous a manqué des amorces pour rechercher en plus des carbapénémases de classe D comme Oxa-48 qui est très répandu, des carbapénémases de la classe A et de la classe B. Par conséquent nous avons obtenu des faux positifs et des faux négatifs.

En effet des résultats que nous avons considérés comme étant de Faux Positifs ne le sont peut-être pas. Ils correspondent certainement à des carbapénémases issus de l'activité de gènes autres que ceux que nous avons pu couvrir par notre PCR multiplex.

Aussi les faux négatifs que nous avons obtenus peuvent être justifiés par un défaut de lyse. Il se pourrait que les réactifs que nous avons utilisés ne soient pas de qualité optimale pour réaliser une lyse parfaite de la cellule bactérienne. D'où les imperfections de notre étude.

Dans d'autres pays dans le monde où la même étude a été réalisée, la PCR couvrait toutes les familles de carbapénémase. Une recherche de toutes les carbapénémases produites par chacune des bactéries était systématiquement effectuée [44, 46, 50]. Ainsi aucun résultat n'est injustement considéré comme faux positif alors qu'il s'agit d'une vraie carbapénémase. De même il n'y a pas de risque de considérer un résultat comme négatif alors qu'il y a bien production de carbapénémase. Au final tous les résultats sont justement interprétés.

Dans notre cas, le manque de réactifs notamment d'amorces de toutes les carbapénémases nous a empêchés de faire une recherche complète des gènes induisant la production de carbapénémases. Ainsi certains résultats ont été injustement considérés comme faux positif alors qu'il s'agit de vraies carbapénémases. Mais ces carbapénémases sont induites par des gènes autres que ceux que nous avons recherchés lors de la PCR.

D'autres résultats bien que révélés négatifs par les tests ne le sont pas. La qualité des réactifs que nous avons utilisés n'a probablement pas permis une bonne lyse bactérienne pour la libération des carbapénémases.

Limites de notre étude

Etant donné que c'est la première fois qu'une étude du genre est réalisée au Maroc, notre travail mérite naturellement des améliorations.

En effet l'effectif des entérobactéries de notre échantillon n'était pas élevé. Il serait bien dans de prochaines études d'avoir un échantillon plus important pour des résultats plus pertinents.

De même, le fait que le manque de réactifs nous ait limité dans la recherche des gènes induisant la production de carbapénémase a impacté les résultats de notre étude. Il faudra pour les fois à venir faire une recherche complète de tous les gènes impliqués dans la production de carbapénémases pour une interprétation complète et fiable.

Recommandations pour le bon usage des carbapénèmes

L'usage des carbapénèmes augmente avec l'extension des résistances aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatifs, particulièrement des bêtalactamases à spectre étendu ; il fait craindre la perte d'activité de cette classe, du fait de l'apparition des carbapénémases [17]. Par conséquent, les sociétés savantes émettent des recommandations pour limiter les résistances aux carbapénèmes.

Les recommandations ci-dessous émanent de la Commission des anti-infectieux de l'Assistance publique-Hôpitaux de Paris. Ils visent à encourager un usage raisonné et aussi limité que possible des carbapénèmes [17].

Selon ces recommandations, l'emploi des carbapénèmes doit obéir à quatre règles spécifiques de bon usage [17]:

1. Prescription exclusivement en cas de bacilles à Gram négatif multirésistants en milieu hospitalier ;
2. Lorsqu'il n'y a pas d'alternative ;
3. En cas de traitement empirique, réévaluation à 48 heures dans le but d'une désescalade en favorisant les alternatives thérapeutiques ;
4. L'ertapénème doit être réservé au traitement des infections urinaires à entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi, en l'absence d'alternative.

Mesures communes de prévention de la diffusion par transmission croisée de bactéries multirésistantes (BMR) [6].

Cette prévention repose sur deux types de mesures, l'identification précoce et l'isolement des patients porteurs :

✓ Utilisation optimale des antibiotiques

L'usage optimal des antibiotiques est un élément incontournable d'un programme de prévention de l'émergence de la résistance bactérienne.

Il s'agit là de la première action à réaliser pour réduire la pression sélective générée par l'utilisation des antibiotiques.

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

✓ Identification des patients porteurs de BMR

L'identification des patients porteurs de BMR est primordiale, car c'est elle qui permet de mettre en œuvre les mesures d'isolement. Cette identification concerne :

- Les patients déjà connus pour être porteurs, et signalés d'emblée à l'admission (ex : fiche de liaison, utilisation des systèmes d'information hospitalière, mention par le patient lui-même et son entourage).

- Les patients pour lesquels une carbapénémase a été mise en évidence à partir de prélèvements à visée diagnostique ou à partir de prélèvements de dépistage.

L'identification des patients porteurs de BMR comprend :

- La détection de la multirésistance au laboratoire
- La signalisation des patients porteurs de BMR dans le service d'hospitalisation qui permet d'indiquer de façon explicite, à chacun des acteurs de soins, les précautions particulières pour la prise en charge de ces patients.

La mise en place d'un système d'information relatif au portage de BMR, permettant de reconnaître ces patients lors d'une nouvelle hospitalisation afin que les mesures requises soient mises en place. Les mécanismes d'identification proposés sont :

- Alerte mentionnant le statut de porteur dans le système informatique d'admission;
- Alerte inscrite sur le dessus, à l'intérieur de chacun des tomes du dossier médical ;
- L'identification du statut de porteur doit demeurer inscrite dans le dossier médical du patient et dans le système informatique jusqu'à indication contraire du service de prévention des infections, après l'analyse du dossier.

✓ **Précautions d'isolement**

Il s'agit d'un isolement technique et géographique.

L'isolement technique est indispensable. Il vise à instituer une barrière physique autour d'un patient porteur pour éviter la dissémination des BMR. L'organisation du service doit être conçue pour faciliter l'application des mesures d'isolement technique: signalisation, équipement et organisation du travail notamment pour éviter l'interruption des soins. Pour être acceptées, les mesures d'isolement technique doivent être expliquées au patient et à son

entourage. L'isolement technique repose sur:

- Le lavage antiseptique (hygiénique) des mains après contact avec le patient porteur.
- Le port de gants à usage unique non stériles lors de tous les contacts particulièrement contaminants avec le patient porteur, et dans certains cas, avec son environnement immédiat. Ils doivent être ôtés dans la chambre. L'utilisation de gants ne dispense en aucun cas du lavage des mains après le contact.
- Le port de tablier lors de soins particulièrement contaminants ou exposant à un contact large avec le patient.
- L'utilisation de matériel de soins réservé à chaque patient porteur de BMR (matériel de toilette, tensiomètre, stéthoscope, petit matériel de soin...).
- La gestion rigoureuse des déchets qui doivent être gardés dans la chambre jusqu'à leur évacuation rapide selon la filière réglementaire habituelle.
- Le traitement adéquat (incinération) des excréta et déchets de patients infectés ou colonisés.

L'isolement géographique facilite considérablement l'application des mesures d'isolement technique. Il se fait en chambre individuelle ou à défaut en chambre à plusieurs lits regroupant des patients porteurs du même type de BMR. Lorsque plus de deux patients sont reconnus porteurs, ceux-ci sont regroupés, soit au sein de l'unité elle-même dans une ou plusieurs chambres formant un secteur, soit dans une unité spécifique. Le personnel médical et paramédical affecté aux patients ainsi regroupés doit si possible être distinct de celui affecté aux autres patients. Dans le cas contraire, les soins et les visites médicales sont assurées en allant du « secteur non BMR » au « secteur BMR ».



Conclusion

Les bactéries productrices de carbapénémases représentent une nouvelle menace pour la santé publique. Ces souches nécessitent d'être rapidement et efficacement détectées afin de prendre au plus vite les mesures préventives et thérapeutiques appropriées vis à vis des patients qui les hébergent [2].

La difficulté de détection des bactéries productrices de carbapénémases a joué un rôle important dans leur expansion plus ou moins silencieuse dans le monde bactérien [41].

Les laboratoires de microbiologie du Maroc enregistrent eux aussi de plus en plus de résistance par production de carbapénémases aux deux carbapénèmes (Imipénème et Ertapénème) qui y sont commercialisés.

L'objectif de notre travail était, d'une part de mettre au point une nouvelle technique chromogénique de détection des bactéries productrices de carbapénémase, le Carba NP Test au niveau du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat (HMIMV) ; et d'autre part de comparer cette technique à celle actuellement utilisée en routine dans le laboratoire (le Test de Hodge modifié).

Nous avons pu mettre au point le Carba NP Test qui est très facilement reproductible (nécessite peu de moyens : matériels et réactifs). C'est un test rapide (moins de 2 heures) et peu coûteux. Il peut être réalisé sur les souches isolées voir directement à partir des hémocultures positives

Les résultats de la comparaison du Carba NP Test avec le Test de Hodge modifié révèlent que le test chromogénique développé par Nordmann et Poirel est plus performant que le test de Hodge modifié dans la détection des bactéries productrices de carbapénémases. En effet il présente des valeurs très élevées de

sensibilité et de spécificité en matière de détection de toutes les carbapénémases.

L'Inconvénient du Carba NP test est la nécessité de mettre au point la technique au laboratoire [44].



Résumés

Résumé

Titre : *Détection des bactéries productrices de carbapénémases : Mise au point du Carba NP Test et comparaison au Test de Hodge modifié.*

Auteur : Mr. ADDA Tokandji Rostand

Mots clés : *Acinetobacter baumannii*, Carba NP Test, carbapénémase, Entérobactérie, Test de Hodge modifié.

Objectifs : Mettre au point le Carba NP test au niveau du laboratoire de Bactériologie de l'HMIMV de Rabat, puis comparer ses résultats aux résultats du test de HODGE modifié en prenant pour référence la détection des gènes induisant la production de carbapénémases par PCR multiplex.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude descriptive, prospective. Nous avons mis au point le Carba NP Test et avons soumis nos isolats bactériens au Carba NP test et au Test de Hodge modifié en prenant comme méthode de référence la détection des gènes induisant la production de carbapénémase par PCR multiplex.

Résultats : Au total 78 isolats dont 63 *Acinetobacterbaumanii* et 15 entérobactéries ont été inclus dans notre étude.

Chez les *Acinetobacter*, la sensibilité et la spécificité du Carba NP Test sont respectivement de 87.8% et 72.73% contre respectivement 71.43% et 52.38% pour le TH.

Chez les Entérobactéries nous avons obtenu pour le Carba NP Test une sensibilité et une spécificité respective de 87.5% et 85.71% et pour le TH respectivement 50,00% et 44.44%.

Certes, ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux avancés par la littérature, mais cela est dû aux aléas d'approvisionnement en réactifs.

Conclusion : Le Carba NP Test a pu être mis au point dans le laboratoire de bactériologie de l'HMIMV de Rabat. Il est beaucoup plus performant que le TH, aussi bien chez les *Acinetobacter* que chez les Entérobactéries, avec une meilleure sensibilité et une meilleure spécificité. Il est facilement reproductible, rapide (moins de 2 heures) et peu coûteux et donc à préconiser.

Summary

Title: *Detection of carbapenemase-producing bacteria: set up of the Carba NP Test and comparison to Modified Hodge Test.*

Author: Mr. ADDA Tokandji Rostand

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Carba NP Test, carbapenemase, Enterobacteriaceae, Modified Hodge Test.

Objectives: To perform the Carba NP Test in the laboratory of bacteriology in the Mohamed V Military Teaching Hospital of Rabat (HMIMV) and to compare the results of this test to the results of the Modified Hodge Test, by using as reference, the detection of the genes inducing the production of carbapenemase by multiplex PCR.

Materials and methods: It is a descriptive and prospective study. We set up the Carba NP Test, and tested our isolates with the Carba NP Test and the Modified Hodge Test, using as reference, the detection of the genes inducing the production of carbapenemase by multiplex PCR.

Results: A total of 78 isolates, which comprised; 63 *Acinetobacter baumannii* and 15 Enterobacteriaceae were used in our study.

For *Acinetobacter baumannii*, the sensitivity and the specificity were respectively 87.8% and 72.73% for the Carba NP Test, and 71.43% and 52.38% for the modified Hodge Test.

For Enterobacteriaceae, the sensitivity and the specificity were respectively 87.5% and 85.71% for the Carba NP Test, and 50.00% and 44.44% for the modified Hodge Test.

In fact, these results are slightly inferior to what appears in literature but this is due to the fluctuations in the procurement of reagents.

Conclusion: We were able to perform the Carba NP Test in the laboratory of bacteriology in the Mohamed V Military Teaching Hospital (HMIMV). This test is more efficient, with better sensitivity and specificity than the modified Hodge Test, both for *Acinetobacter* and Enterobacteriaceae. The Carba NP Test is easily reproducible, rapid (less than 2 hours) and less expensive, thus to be recommend.

ملخص

عنوان : رصد الباكثيريات المنتجة للكاربايناماز استعمال اختبار كاربا نب ومقارنتها باختبار هودج معدل.

الكاتب : ادا توكانجي روستند.

كلمات الأساسية: اسينيتو باكتير بوماني - اختبار كاربا NP - كاربا بينيماز - اونتيروباكتيريا - اختبار هودج المعدل.

- الهدف : دراسة اختبار كاربا نب على مستوى مختبر علم الباكثيريا للمستشفى العسكري محمد الخامس الرباط. ثم مقارنة النتائج المحصل عليها بالنتائج المحصل عليها في اختبار هودج معدل مع الاخذ كمعيار اصلي النتائج المحصل عليها من رصد الجينات المسببة لإنتاج الكاربايناماز بتقنية PCR multiplex

الادوات والأساليب : يتعلق الامر بدراسة وصفية ومستقبلية منجزة على باكتيريا معزولة في مختبر علم الباكثيريا في المستشفى العسكري محمد الخامس بالرباط. تمكنا من دراسة اختبار الكاربا نب واخضعنا معزلاتنا البكتيرية لكاربا نب واختبار هودج معدل. مع الاخذ كطريقة مرجعية رصد الجينات المنتجة لكاربايناماز PCR multiplex

النتائج : المجموع 78 معزولة فيما بينها 63 اسينيتوباكتير بوماني و 15 انتيروباكتيريا تتضمنها دراستنا.

عند اسينيتوباكتير الحساسية والخصوصية لاختبار كاربا نب وهم على التوالي 87,8% و 72,73% مقابل 71,43% و 52,38% باختبار هودج معدل . على التوالي 50,00% و 44,44% .

اكيد ، هذه النتائج اقل بقليل للمتداولة في المراجع ولكن هذا ناتج عن النقص بالتزويد بالمفاعلات .

خاتمة: تمكنا من انجاز اختبار كاربا نب في مختبر علم الباكثيريا للمستشفى العسكري محمد الخامس بالرباط ويعتبر اكثر تطورا من اختبار هودج معدل. للاسينيتوباكتير كما للانتيروباكتيريا مع حساسية افضل وخصوصية احسن وهو سهل ومكرر وسريع اقل من ساعتين وغير مكلف إذن ننصح باستخدامه.



Bibliographie

- [1]. **Krisztina M. Papp-Wallace, Andrea Endimiani, Magdalena A. Taracila and Robert A. Bonomo**, *Carbapenems: Past, Present, and Future*, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2011, pp. 4943–4960.
- [2]. **Adeline BOUTET-DUBOIS, Alix PANTEL, Albert SOTTO, Jean-Philippe LAVIGNE**, *Les entérobactéries productrices de carbapénémases*, Avril 2012 , Alin&as, pp. 1-5.
- [3]. **Naas, Nordmann**, *Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A betalactamase from Enterobacter cloacae and of its LysR-type regulatory protein. Proc.Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 16, 1994, Vol. 91, pp. 7693–7697.
- [4]. **Lapelletier, Batard, Berthelot, Zahar, Lucet, Fournier, Jarlier, Grandbastien**, *Maîtrise de la diffusion des entérobactéries productrices de carbapénémases : épidémiologie, stratégies de prévention et enjeux*, s.l. : Elsevier Masson SAS pour la Société nationale française de médecine interne (SNFMI), *La Revue de médecine interne* , 2015, pp. 474–479.
- [5]. **A. Benouda, O. Touzani, M. Khairallah, G. Araj, G. Matar**, *First detection of oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in Klebsiella pneumoniae from Morocco*, Rabat : s.n., *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 2010, Vol. 104, pp. 327–330.
- [6]. **Yahyaoui Ghita**, *Les enterobacteries productrices de carbapenemases: etude prospective*. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès : s.n., Juin 2013.

- [7]. **N. Grall, A.Andremont, L.Armand-Lefèvre,** *Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse?* Journal des Antinfectieux. 2011,
- [8]. **Laurent Dortet, Laurent Poirel, P. Nordmann,** *Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénémases.* Mai 2013, feuillets de Biologie.
- [9]. **Fernando Pasteran, Omar Veliz, Melina Rapoport, Leonor Guerriero, and Alejandra Corso,** *Sensitive and Specific Modified Hodge Test for KPC and Metallo-Beta-Lactamase Detection in Pseudomonas aeruginosa by Use of a Novel Indicator Strain, Klebsiella pneumoniae ATCC 700603.* JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Décembre 2011, pp. 4301–4303.
- [10]. **Patrice Nordmann, Laurent Poirel, and Laurent Dortet,** *Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.,* Emerging Infectious Diseases, 2012, pp. 1503-1507.
- [11]. **Woodford, Neil,** *Rapid Characterization of b-Lactamases by Multiplex PCR.* Methods in Molecular Biology, 2010, pp. 181-192.
- [12]. **Laurent Dortet, Laurent Poirel, Caroline Errera, Patrice Nordmann,** *CarbAcineto NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing Acinetobacter spp.* Journal of Clinical Microbiology, 2014, pp. 2359–2364.
- [13]. **Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** Recommandations. Juillet 2015. Vol. V.2.0.

- [14]. **P. Nordmann, M. Gniadkowski, C. G. Giske, L. Poirel, N. Woodford, V. Miriagou**, *Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, pp. 432–438.
- [15]. **Axel Dalhoff, Nebojsa Janjic , Roger Echols**, *Redefining penems*. *Biochemical pharmacology* 71 , 2006, pp. 1 0 8 5– 1 0 95.
- [16]. **M. Wolff, M.-L. Joly-Guillou, O. Pajot**, *Les carbapénèmes*. *Comparative reviews of carbapenems*, 2009, pp. S199-S208.
- [17]. **R. Gauzit, L. Gutmann, C. Brun-Buisson, V. Jarlier, B. Fantin**, *Recommandations de bon usage des carbapénèmes*. *Antibiotiques*, 2010, pp. 183-189.
- [18]. **Carle**, *La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !* *Pharmactuel* Vol. 42 Supplément 2, 2009, pp. 6-21.
- [19]. **Felipe Fernández-Cuenca, Luis Martínez-Martínez, M^a Carmen Conejo, Juan A. Ayala, Evelio J. Perea and Alvaro Pascual**, *Relationship between β -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii**, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , 2003, pp. 565–574.
- [20]. **Cattoir**, *Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries*, *Pathologie Biologie* 52, 2004, pp. 607–616.

- [21]. **Johann D. D. Pitout, Nancy D. Hanson, Deirdre L. Church, and Kevin B. Laupland**, *Population-Based Laboratory Surveillance for Escherichia coli–Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Importance of Community Isolates with blaCTX-M Genes*. *Clinical Infectious Diseases*, 2004, pp. 1736–41.
- [22]. **H. Knothe, P. Shah, V. Krcmery, M. Antal, S. Mitsuhashi**, *Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitin, Cefamandole and Cefuroxime in Clinical Isolates of Klebsiella pneumoniae and Serratia marcescens*, *Infection* 11 Nr. 6, 1983, pp. 35-37.
- [23]. **Axel Siroy, Virginie Molle, Christelle Lemaître-Guillier, David Vallenet, Martine Pestel-Caron**, *Channel Formation by CarO, the Carbapenem Resistance-Associated Outer Membrane Protein of Acinetobacter baumannii*. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 2005, pp. 4876–4883.
- [24]. **Martina M. Ochs, Manjeet Bains, and Robert E. W. Hancock**, *Role of Putative Loops 2 and 3 in Imipenem Passage through the Specific Porin OprD of Pseudomonas aeruginosa*. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 2000, pp. 1983–1985.
- [25]. **AMBLER**, *The structure of beta-lactamases.*, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 1980, B289, pp. 321-331.
- [26]. **L. Poirel, J. D. Pitout, P. Nordmann**, *Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences*, *Future Microbiol.*, 2007, pp. 501-512.

- [27]. **Anne Marie Queenan, Carlos Torres-Viera, Howard S. Gold, Yehuda Carmeli**, *SME-Type Carbapenem-Hydrolyzing Class A β -Lactamases from Geographically Diverse *Serratia marcescens* Strains*. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2000, pp. 3035–3039.
- [28]. **Hesna Yigit, Anne Marie Queenan, Gregory J. Anderson**, *Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae**. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2001, pp. 1151–1161.
- [29]. **Patrice Nordmann, Gaelle Cuzon, Thierry Naas**, *The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria*. Lancet Infect Dis , 2009, pp. 228-36.
- [30]. **Anne Marie Queenan, and Karen Bush**, *Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases*. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, 2007, pp. 440–458.
- [31]. **Patrice Nordmann, Thierry Naas, and Laurent Poirel**, *Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. Emerging Infectious Diseases, 2011, pp. 1791-1798.
- [32]. **G. Cuzon, T. Naas, P. Nordmann**, *Carbapénémases de type KPC : quel enjeu en microbiologie clinique ?* Pathologie Biologie 58 , 2010, pp. 39–45.
- [33]. **Iraida E. Robledo, Edna E. Aquino, Maria I. Santé, Jorge L. Santana**, *Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico*. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2010, pp. 1354–1357.

- [34]. **Ito Hideo, Yoshichika Arakawa, Shinji Ohsuka, Rochaporn Wacharotayankun, Nobuo Kato And Michio Ohta**, *Plasmid-Mediated Dissemination of the Metallo- β -Lactamase Gene blaIMP among Clinically Isolated Strains of Serratia marcescens.*, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 1995, pp. 824–829.
- [35]. **Patrice Nordmann, Laurent Poirel, Mark A. Toleman and Timothy R. Walsh**, *Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?*, J Antimicrob Chemother , 2011, pp. 689–692.
- [36]. **Christian G. Giske, Inga Fröding, Chowdhury Mehedi Hasan, Agata Turlej-Rogacka, Mark Toleman, David Livermore, Neil Woodford and Timothy R. Walsh**, *Diverse Sequence Types of Klebsiella pneumoniae Contribute to the Dissemination of blaNDM-1 in India, Sweden, and the United Kingdom*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy , 2012, pp. 2735–2738.
- [37]. **Laurent Poirel, Claire Héritier, Venus Tolun, and Patrice Nordmann**, *Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in Klebsiella pneumoniae*. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2004, pp. 15–22.
- [38]. **Mariana Castanheira, Lalitagauri M. Deshpande, Dilip Mathai, Jan M. Bell, Ronald N. Jones, and Rodrigo E. Mendes**, *Early Dissemination of NDM-1- and OXA-181-Producing Enterobacteriaceae in Indian Hospitals: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007*. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Mars 2011, pp. 1274–1278.

- [39]. **Laurent Poirel, Alain Ros, Amélie Carrer, Nicolas Fortineau, Anne Carricajo, Philippe Berthelot, Patrice Nordmann**, *OXA-48 producing Enterobacter cloacae from Morocco to France*. s.l. : Journal of antimicrobial chemotherapy.
- [40]. **Youriglupczynski et Al.**, *Rapid emergence and spread of OXA-48-producing carbapenem-resistant enterobacteriaceae isolates in Belgian hospitals.*, s.l. : International Journal of Antimicrobial Agents , 2012, pp. 168-172.
- [41]. **Laurent Poirel, Anaïs Potron, Patrice Nordmann**, *OXA-48-like carbapenemases: The phantom menace*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012, pp. 1597–1606.
- [42]. **V. Miriagou, G. Cornaglia, M. Edelstein, I. Galani, C. G. Giske, M. Gniadkowski, E. Malamou-Lada, L. Martinez-Martinez**, *Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues*. Clin Microbiol Infect , 2010, pp. 112–122.
- [43]. **Delphine Girlich, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann**, *Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae*. Journal of Clinical Microbiology , 2011, pp. 477–479.
- [44]. **CNR, INSERM, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud**. Note technique : Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase. Mars 2015.
- [45]. **Jaroslav Hrabák, Eva Chudácková, Radka Walková**, *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry for Detection of Antibiotic Resistance Mechanisms: from Research to Routine Diagnosis*. Clinical Microbiology Reviews , 2013, pp. 103–114.

- [46]. **Laurent Dortet, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann**, *Rapid Identification of Carbapenemase Types in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. by Using a Biochemical Test*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 2012, pp. 6437–6440.
- [47]. **Rémy A, Bonnin, Patrice Nordmann, Laurent Poirel**, *Screening and deciphering antibiotic resistance in Acinetobacter baumannii: a state of the art*. *Expert Reviews Ltd*, 2013, pp. 571-581.
- [48]. **D. Hammoudi, C. Ayoub Moubareck, D. Karam Sarkis**, *How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods*. *Journal of Microbiological Methods*, 2014, pp. 106-118.
- [49]. **Patrice Nordmann, Laurent Poirel, Timothy R. Walsh and David M. Livermore**, *The emerging NDM carbapenemases*. *Trends in Microbiology*, 2011.
- [50]. **Patrice Nordmann, Delphine Girlich, and Laurent Poirel**, *Detection of Carbapenemase Producers in Enterobacteriaceae by Use of a Novel Screening Medium*. *Journal of Clinical Microbiology* , 2012, pp. 2761–2766.
- [51]. **C. G. Giske, L. Gezelius, Ø. Samuelsen, M. Warner, A. Sundsfjord and N. Woodford**, *A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-β-lactamases and KPC in Klebsiella pneumoniae with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin*. *Clin Microbiol Infect* , 2011, pp. 17: 552–556.

- [52]. **German Bou, Antonio Oliver And Jesus Martinez-Beltran**, *OXA-24, a Novel Class D β -Lactamase with Carbapenemase Activity in an *Acinetobacter baumannii* Clinical Strain.*. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2000, pp. 1556–1561.
- [53]. **Jan Walther-Rasmussen, and Niels Høiby**, *OXA-type carbapenemases*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, pp. 373–383.
- [54]. **Laurent Poirel, Sophie Marqué, Claire Héritier, Christine Segonds, Gérard Chabanon, and Patrice Nordmann**, *OXA-58, a Novel Class D beta-Lactamase Involved in Resistance to Carbapenems in *Acinetobacter baumannii**. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2005, pp. 202–208.
- [55]. **Zineb Achkour**. *EMERGENCE DE LA RÉSIISTANCE AUX CARBAPÉNÈMES CHEZ LES BACILLES À GRAM NÉGATIF*. Rabat : Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, 2012.
- [56]. **Bergogne-Bérézin Eugénie**, *The Increasing Role of *Acinetobacter* Species As Nosocomial Pathogens*. Current Infectious Disease Reports, 2001, pp. 3:440–444.
- [57]. **K. F. Anderson, D. R. Lonsway, J. K. Rasheed, J. Biddle, B. Jensen, L. K. McDougal, R. B. Carey, A. Thompson, S. Stocker, B. Limbago, and J. B. Patel**, *Evaluation of Methods To Identify the *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase in *Enterobacteriaceae**, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 2007, pp. 2723–2725.
- [58]. **Walsh, Timothy R.**, *Emerging carbapenemases: a global perspective*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010, pp. S8–S14.

- [59]. **Timothy R. Walsh, Mark A. Toleman, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann**, *Metallo-beta-Lactamases: the Quiet before the Storm?* CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, 2005, pp. 306–325.
- [60]. . **SK Yamashita, M. Louie, A. E. Simor, A. Rachlis**, *Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit* Can J Infect Dis, 2000, pp. 107-111.
- [61]. **Kumarasamy Karthikeyan, M. A. Thirunarayan and Padma Krishnan**, *Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of Acinetobacter baumannii from India.*, J Antimicrob Chemother , 2010, pp. 2253–2270.
- [62]. **Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière**. *Bactériologie DCEM1*. paris : s.n., 2002--2003.
- [63]. **Patrice Nordmann**, *Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à gram négatif.* MEDECINE/SCIENCES, 2010, pp. 950-9.
- [64]. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Stenotrophomonas>. [Online] [Cited: juillet 02, 2016.]
- [65]. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae>. [Online] [Cited: Juillet 31, 2016.]
- [66]. **Daroukh, Delaunay, Bigot, Ceci, Siddhoun, Bukreyeva, Raisin, Porcheret, Maisonneuve, Bouldouyre**, *Characteristics and costs of carbapenemase-producing enterobacteria carriers (2012/2013)*. Seine saint denis : s.n., Médecine et maladies infectieuses, 2014, pp. 321–326.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
 - D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à 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 méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -



قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أقسم 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 وبأدب 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.

- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

**رصد الباكثيريات المنتجة للكاربابيناماز :
استعمال اختبار كاربانج
ومقارنتها باختبار هودج معدل**

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

السيد: طوكاندي روستاند أدا

المزداد في: 12 يونيو 1993 بباراكو (بنين)

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: اسينيتو باكتير بوماني - اختبار كاربا NP - كاربا بينيماز - اونتيروباكتيريا - اختبار هودج المعدل .

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

| | |
|-------|--|
| رئيس | السيد: عبد الواحد بايت أستاذ في الإنعاش والتخدير |
| مشرف | السيد: عبد الحي لمنور أستاذ في علم الجراثيم |
| أعضاء | السيد: مصطفى الوناس أستاذ في علم الجراثيم |
| | السيد: عز الدين ابراهيمي أستاذ في علم التكنولوجيا الحيوية |
| | السيد: حسين اتليكي أستاذ في علم الطفيليات |
| ضيف | السيد: محمد فريخ أستاذ مساعد في علم الأحياء الدقيقة |