



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimî B.B.A
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de
l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé :

**La résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à
Gram négatif : synthèse bibliographique**

Présenté par:

BAATOUCHE Chahinaz & HOUFAF Aya

Soutenu le 30 / 6 / 2024, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	M ^{me} SOUAGUI Yasmina	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	M ^{me} ABED Hanane	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	M ^{me} BOUGUERRA Asma	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

Remerciement

*Avant tout nous remercions Dieu tout puissant pour nous avoir donné la force, le courage ainsi que la patience pour mener à terme ce travail. L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par **Dr. Abed Hanan**, nous tenons vivement à lui exprimer nos profonde reconnaissances gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour notre sujet de travail. Nous la remercions de nous avoir fait confiance et d'avoir été présent aussi souvent que possible malgré ses tâches pédagogiques. Son soutien permanent et son dynamisme nous ont permis d'avancer plus loin dans notre travail. Nos remerciements vont aussi à l'ensemble des enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Université de Bba, et sur tout les enseignants qui nous ont fait former durant ces 5 années merci pour votre encouragement et gentillesse.*

Tous nos amis pour leur solidarité

La meilleure équipe, l'équipe de la microbiologie

A nos parents

Pour l'enfance merveilleuse qu'ils nous ont offerte ainsi que pour leurs encouragements. Pour leurs soutiens et leurs aides. Avec tout notre amour.

A tous nos amis

Pour leurs bonnes humeurs, leurs gentillesse et pour tous nos fous rires partagés.

Pour tout ce qu'ils nous ont appris

Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et que nous ne pouvons citer individuellement.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents

A ma chère maman, mon amie, ma confiance, ma force, qui m'encourage toujours dans ma vie et son soutien tout au long des années d'études. Tu représentes beaucoup pour moi, si je suis arrivée là c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.

A mon cher père, qui a été et sera toujours un exemple pour moi par ses qualités humaines, ses honnêteté et son soutien.

A mon très cher mari Toufik, ton confiance et ton encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer toujours vers l'avant. J'ai tellement de chance de t'avoir dans ma vie.

A mes très chères soeurs : Khawla, Ritedj et Kawther, avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

A ma petite princesse Djannah, je te souhaite une longue vie plein de succès, de santé et de joie ma belle.

Et sans oublier mon grand-père, mes oncles, ma belle-mère, mon beau-père et tous ceux qui m'ont aidé dans mes études et tous ceux qui m'aiment.

AYA

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect: mon cher père **Layachi**.*

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse: mon adorable mère.

*A mon fiancé **Riad** qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu le protège et lui accorde la chance et le bonheur.*

*A mes frères **Othman et Oussama** pour leur présence et dévouement.*

A mon adorable petite sœur qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier mon binôme pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

CHAHINAZ

Table des matières

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
CHAPITRE I : Carbapénèmes	2
I.1. Les β lactamines	2
I.1.1. Structure chimique de β -lactamines.....	2
I.1.2. Types de β lactames	3
I.2. Carbapénèmes.....	4
I.2.1. Définition.....	4
I.2.2. Structure chimique.....	5
I.2.3. Types de carbapénèmes.....	5
I.2.4. Mécanismes d'action des cabapénèmes.....	6
I.2.5. L'activité microbiologique.....	7
CHAPITRE II: Mécanismes de résistance aux carbapénèmes.....	9
II.1. Mécanisme enzymatique	9
II.1.1. Types des carbapénèmases	10
A) Carbapénèmases de classe A	10
B) Carbapénèmases de classe B.....	11
C) Carbapénèmases de classe C.....	12
D) Carbapénèmases de classe D	13
II.2.Mécanisme non enzymatique	14
II.2.1. Association de mécanismes	14
II.2.2. Altération des protéines de liaison des pénicillines (PLP)	15
CHAPITRE III : Les bactéries multirésistantes émergentes.....	16
III.1. Définition.....	16
III.2. Types des BMR.....	16
III.2.1. Entérobactéries productrices de carbapénèmases EPC.....	17

III.2.1.1. Mécanisme de résistance des entérobactéries aux carbapénèmes.....	18
III.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
III.2.2.1. Mécanisme de résistance.....	19
III.2.3. <i>Acinetobacter baumannii</i>	20
III.2.3.1. Mécanisme de résistance.....	21
CHAPITRE IV: Méthodes d'identification des souches productrices de carbapénèmases	23
IV.1. Méthodes phénotypiques	23
IV.1.1. Les méthodes d'inhibition.....	23
IV.1.1.1. Concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	23
IV.1.1.2. Test de disques combinés.....	24
IV.1.2. Tests d'hydrolyse	26
IV.1.2.1. Tests colorimétriques	26
IV.1.2.2. Identification d'une activité carbapénémase par spectrométrie de masse	27
IV.1.3. Tests immunochromatographiques	28
IV.2. Les méthodes génotypiques (Détection moléculaire des gènes de carbapénémase).....	29
A. Polymerase chain reaction (PCR) et séquençage	29
B. Biopuces à ADN.....	30
Conclusion.....	32

Références

Résumé

Liste des Tableaux

TableauxI	Activité in vitro des carbapénèmes sur les bactéries à Gram négatif	8
TableauxII	Activité in vitro des carbapénèmes sur les bactéries à Gram positif	8
TableauxIII	Principales carbapénémases chez les entérobactéries : support génétique, spectre d'hydrolyse et molécules actives	14
TableauxIV	Les principaux BMR communautaires et hospitaliers	16
TableauxV	Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) critiques (mg/L) pour les carbapénèmes selon (CA-SFM) et (EUCAST)	23

Liste des Figures

Figure1	Représentation de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif	2
Figure2	Structure moléculaire du noyau bêta-lactame	3
Figure3	Structure chimique de base des carbapénèmes	5
Figure4	Schéma du mode d'action des carbapénèmes	7
Figure5	Structure des carbapénémase KPC-2 en cristal (Protein Data Bank [PDB] identifier 2OV5), présente dans le périplasma, <i>P. aeruginosa</i>	9
Figure6	Classement des carbapénémases selon les différentes classes d'Ambler	10
Figure7	Représentation schématique des différentes structures du transposon Tn4401 identifiées sur différents plasmides porteurs du gène <i>blaKPC</i>	11
Figure8	Mécanisme de résistance aux carbapénèmes	15
Figure9	Image d'entérobactérie en microscopie à balayage	17
Figure10	Images d' <i>Escherichia coli</i> (A) Cellules d' <i>Escherichia coli</i> (coloration de Gram). (B) Cellules d' <i>E. coli</i> . (C) Colonies d' <i>E. coli</i> (gélose au sang). (D) Colonies d' <i>E. coli</i> (stéréomicroscope)	18
Figure11	Processus d'identification d'un isolat de <i>P. aeruginosa</i> à partir d'un prélèvement clinique	19
Figure12	Images d' <i>A. baumannii</i> American Type Culture Collection (ATCC) 17978	20
Figure13	Aspect macroscopique des colonies d' <i>Acinetobacter</i>	21
Figure14	Diagramme schématique illustrant le test de disque combiné	24
Figure15	Protocole pour la réalisation du CIM-test	25
Figure16	Principe du test de Hodge modifié.	26
Figure17	Principe du Carba NP test, test de diagnostic rapide de l'activité carbapénémase	27
Figure18	MALDI TOF : imipénème avant et après hydrolyse	28
Figure19	Principe d'un test immunochromatographique	29
Figure22	Principe du réseau Check-Points ESBL/KPC	31

LISTE DES ABBREVIATIONS

- ABRI** : *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AmpC** : Chromosomal located céphalosporinase
- APBA** : Acide 3-aminophénylboronique
- BGN** : Bacilles à Gram négatif
- bla -IMP-4** : gène codant une β -lactamase de type IMP-4
- bla- KPC** : gène codant une β -lactamase de type KPC
- bla -OXA-48** : gène codant une β -lactamase de type OXA-48
- bla -VIM** : gène codant une β -lactamase de type VIM
- BLSE** : β -Lactamase à Spectre Etendu
- BMR** : Bactérie Multirésistante
- CA-SFM** : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
- CIM**: Carbapenem Inactivation Method
- CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute
- CMI** : Concentrations Minimales Inhibitrices
- EBLSE** : Bêta-Lactamase à Spectre Etendu
- EDTA** : Éthylène Diamine Tétra Acétique
- EPC** : Entérobactérie Productrice de Carbapénémase
- ERV** : Les entérocoques Résistants à la Vancomycine ou glycopeptides
- ESAC** : Extended Spectrum AmpC
- EUCAST**: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- IMI** : Imipenem-hydrolyzing β -lactamase
- KPC** : *Kebsiella pneumoniae* carbapénémase
- MALDI-TOF**: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight
- MBL** : Métallo- β -Lactamase
- MDR** : Multi-drug resistant bacteria
- MH**: Muller Hinton
- MHT** : Test de Hodge modifié
- MEB** : Microscope Electronique à Balayage

MET : Microscope Electronique en Transmission

NaCl : Chlorure de Sodium

NDM: New-Delhi Métallo- β -lactamase

OXA : Oxacillinase

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDB : Protein Data Bank

PDR : Pan-drug resistant bacteria

PLP : Proteines de Liaison aux Pénicillines

RND : Resistance-Nodulation-Division

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

UFC : Unité formant colonie

VIM : Verona Integron-encoded metallo- β -lactamase

VP : Voges Proskauer

XDR :Extensively-drug resistant bacteria

Introduction

Introduction

Depuis l'introduction de la pénicilline dans les années 1940, de nombreux agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant fortement la morbidité et la mortalité humaines associées aux infections bactériennes observées avant "l'âge des antibiotiques" (**Muylaert et Mainil, 2012**).

Les carbapénèmes demeurent les β -lactamines dont le spectre d'activité est le plus large. Elles sont utilisées pour traiter de nombreuses infections nosocomiales, en particulier celles liées aux espèces de bacilles à Gram négatif les plus fréquentes que sont les entérobactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes (imipénème, méropénème, doripénème, ertapénème) est l'un des problèmes les plus importants posé par la résistance aux antibiotiques car il existe peu d'alternatives thérapeutiques possibles. Cette résistance aux carbapénèmes a été rapportée dans les années 1990. Elle était alors extrêmement limitée géographiquement, essentiellement au Japon, et due à un type particulier de carbapénèmases (enzymes ayant une forte activité d'hydrolyse des carbapénèmes) : les métallo- β -lactamases de type IMP. Puis, progressivement, l'impact clinique et la diversité des carbapénèmases se sont accrus considérablement pour devenir significatifs au milieu des années 2000, en particulier chez les entérobactéries. Elles constituent désormais une préoccupation majeure de santé publique (**Nordmann, 2010**).

L'Algérie est un pays d'Afrique du Nord qui présente une situation préoccupante en matière de résistance aux antibiotiques. En effet, la dernière décennie a vu une augmentation significative de la résistance aux antibiotiques, en particulier chez les bactéries Gram-négatives (**Baba Ahmed-Kazi et Arlette, 2014**).

Ce présent travail est une étude bibliographique divisé en quatre chapitres. En premier lieu, nous présentons une généralité sur les carbapénèmes puis les mécanismes de leur résistance. Le troisième chapitre est consacré pour les bactéries multirésistantes émergentes. Les méthodes de détection des souches productrices de carbapénèmases sont finalement présentées dans le dernier chapitre.

CHAPITRE I : Carbapénèmes

CHAPITRE I : Carbapénèmes

I.1. Les β lactamines

Les bêta-lactamines sont des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant aux Protéines de Liaison aux Pénicillines (PLP). Les bactéries à Gram négatif diffèrent des bactéries à Gram positif sur certains points (**Figure 1**). Elles possèdent une membrane externe composée de phospholipides hydrophobe, réduisant ainsi le passage des bêta-lactamines, molécules hydrophiles. Le passage des bêta-lactamines se fait donc via des porines, ou par diffusion passive lente à travers la membrane. Après avoir traversé la membrane externe, les bêta-lactamines doivent traverser la couche de peptidoglycane afin d'atteindre les PLP à la surface externe de la membrane cytoplasmique. Enfin, la bêta-lactamine peut exercer son action sur les PLP (**Gregoire, 2018**).

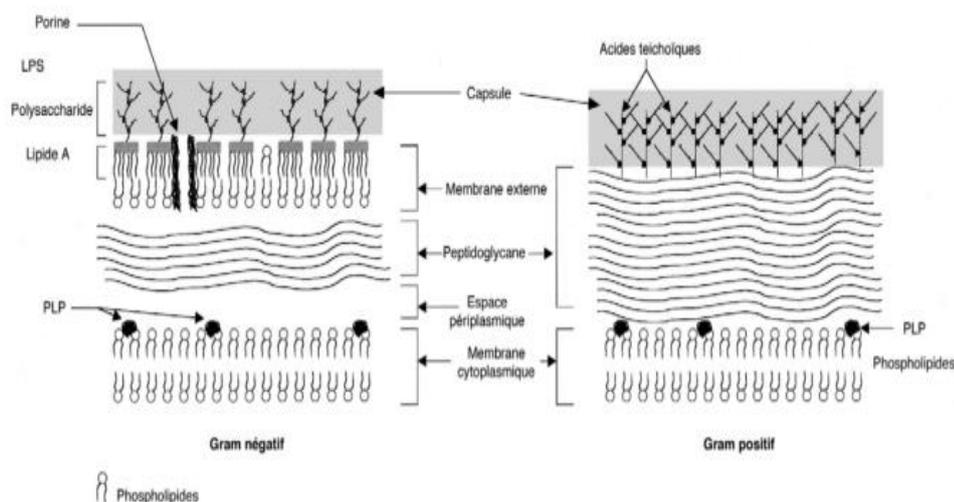


Figure 1 : Représentation de la paroi bactérienne (**Cavallo et al., 2004**).

I.1.1. Structure chimique de β -lactamines

Les β -lactamines, comme leur nom l'indique, sont caractérisées par la présence d'un noyau β -lactame (**Figure 2**), d'un hétérocycle de 5 à 6 atomes dans leur structure moléculaire. Ce noyau est considéré comme la fraction structurale responsable de l'activité antibactérienne (**Gregoire, 2018**).

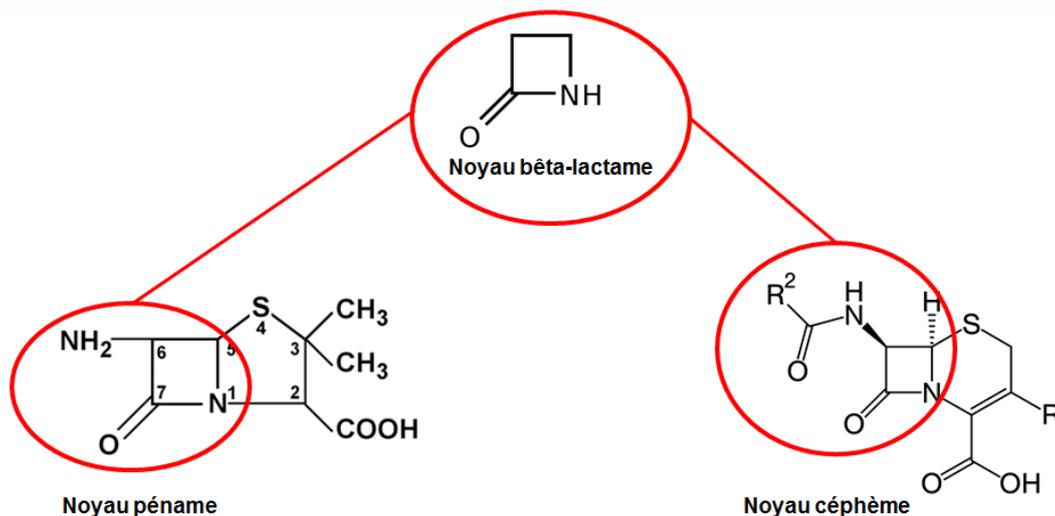


Figure 2 : Structure moléculaire du noyau bêta-lactame (Kassah-laouar, 2020).

I.1.2. Types de β lactames

En fonction de la nature de l'hétérocycle, on peut distinguer quatre classes principales: les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes. Bien que ces classes aient une structure de base commune, elles se divisent en plusieurs sous familles en fonction de la nature du cycle bêta-lactame qui leur est associé (Chemelle, 2010).

a) Pénames

Ce sont les pénicillines à noyau pénème, c'est-à-dire que le cycle est associé à un cycle thiazolidine. Il existe plusieurs groupes qui possèdent des spectres d'action :

Moyen: ce sont les pénicillines G et V actives sur les bactéries à Gram positives.

Étroit: ce sont les pénicillines M actives sur les staphylocoques résistants à la pénicilline G.

Large: c'est le groupe A qui agit notamment sur les bactéries à Gram négatives, telle que les aminopénicillines (Oueslati, 2019).

b) Clavames

Les clavames sont des dérivés de l'acide clavulanique et de l'acide pénicillanique. Ils sont actifs sur des β -lactamases plasmidiques et chromosomiques produites par *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis*, *Bacteroides* spp, mais pas sur celles produites par *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp, et d'autres entérobactéries (Sangaré, 2023).

c) Céphèmes

Ce sont les céphalosporines à noyau céphème. Ce noyau est composé d'un cycle β -lactame et d'un cycle dihydrothiazine. Les céphalosporines sont classées en 4 générations qui ont été commercialisées après leur découverte (**Oueslati, 2019**). Les céphalosporines de 3ème et 4ème génération possèdent le spectre d'action le plus large contre les bactéries à Gram négatif (**Van Bambeke et Tulkens, 2008**).

d) Oxacéphèmes

Ils sont caractérisés par la présence du noyau oxacéphème, dans lequel l'atome de soufre en position 1 du noyau céphème est remplacé par un atome d'oxygène. Cela permet une meilleure pénétration à travers la paroi des bacilles à Gram négatif. De plus, cela entraîne une activité inhibitrice de certaines β -lactamases en raison d'une structure similaire aux clavames (**Cavallo et al., 2004**).

e) Monobactames

C'est une famille de β -lactames monocycliques caractérisée par la présence d'une seule cycle β -lactame. (**Van Bambeke et Tulkens, 2008**). Leur spectre d'activité est étroit, ils sont très actifs sur les entérobactéries et *P. aeruginosa* et inactifs sur les bactéries à Gram positif et les germes anaérobies. L'aztréonam est la seule molécule commercialisée, son action est comparable à celle des céphalosporines de 3^{ème} génération (**Oueslati, 2019**).

f) Carbapénèmes

Une famille des β -lactamines qui ont un large spectre antibactérien et une grande stabilité contre la quasi-totalité des β -lactamases. Ils sont utilisés pour le traitement des infections nosocomiales sévères. (**Papp-Wallace et al., 2011**).

I.2. Carbapénèmes

I.2.1. Définition

Les carbapénèmes sont un type d'antibiotiques comprenant quatre molécules : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème. Ils jouent un rôle crucial dans notre système antibiologique. Le spectre antibactérien des carbapénèmes est large. Ils sont actifs contre la plupart des bactéries anaérobies, à l'exception de *Bacteroides fragilis* et de *Clostridium difficile* (**Cebbron, 2021**).

I.2.2. Structure chimique

Les carbapénèmes dérivent de la thiénamycine. Ils se diffèrent des pénicillines (pénames) par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre endocyclique en position 1 et d'une liaison insaturée en carbone (C) C2-C3 (**Figure 3**), également présente sur les céphalosporines (**Van Bambeke et Tulkens, 2008**). En domaine chimique, cet atome en C1 a un rôle majeur dans leur puissance, spectre d'activité et aussi dans leur stabilité aux β -lactamases. Cette stabilité est due à la trans-orientation des atomes d'hydrogène en C5 et C6 et à la présence d'une chaîne hydroxyethyl en C6 qui participe à la résistance à l'hydrolyse par les β -lactamases. Cette configuration lui donne une grande puissance par rapport aux pénicillines et céphalosporines (**Papp-Wallace et al., 2011**).

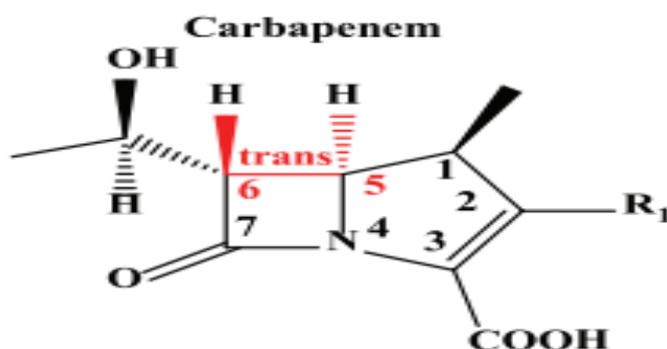


Figure 3 : Structure chimique de base des carbapénèmes (**Papp-Wallace et al., 2011**).

I.2.3. Types de carbapénèmes

On distingue quatre types de carbapénèmes sont : l'imipénème, l'ertapénème, le méropénème, et le doripénème. Des études *in vitro* ont montré que **l'imipénème** possède le spectre le plus large de tous les bêta-lactames, souvent associé à la cilastatine (**Chemelle, 2010**). Il présente une activité légèrement plus importante vis-à-vis contre les bactéries à Gram positif et une activité moindre contre des Gram négatif, comparée à celle du méropénème. (**Jousset, 2018**). **Le méropénème** est prescrit pour traiter les infections nosocomiales suspectées ou prouvées causées par des bacilles à Gram négatif résistants, qu'il s'agisse de manifestations abdominales, broncho-pulmonaires, ou génito-urinaires. Il doit être envisagé en cas de localisation méningée (**Van Hollebeke, 2015**).

L'ertapénème est intéressante dans le traitement des infections urinaires, des

infections intra-abdominales et des infections de la peau et des tissus mous chez les sujets diabétiques. Cependant, il ne doit pas être utilisé dans les infections nosocomiales à haut risque de germes multi-résistants. **Le doripénème** est la dernière molécule mise sur le marché et possède une meilleure activité, in vitro, vis-à-vis de *P. aeruginosa* (Van Hollebeke, 2015).

I.2.4. Mécanismes d'action des carbapénèmes

Les carbapénèmes sont parmi les antibiotiques les plus puissants. Leur activité est liée en particulier à la rapidité de leur pénétration à travers la paroi externe des Bacilles à Gram Négatif (BGN) et à leur stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases naturelles ou acquises (Nordmann, 2010). Ils exercent une activité bactéricide en se liant aux PLP et ont pour cibles privilégiées les PLP1a, 1b et 2. En effet, une lyse préalable associée à une faible libération d'endotoxine par les bacilles à Gram négatif (Wolff et al., 2009).

Les PLP sont des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. En formant une liaison covalente d'acylation avec le site actif de ces enzymes, les β -lactamines empêchent l'action des PLP par un effet bactériostatique et entraîne une rupture de l'équilibre dynamique son réarrangement par les autolysines bactériennes se fait alors en faveur des autolysines qui détruisent la bactérie (effet bactéricide) (Figure 4) (Riethmuller, 2013).

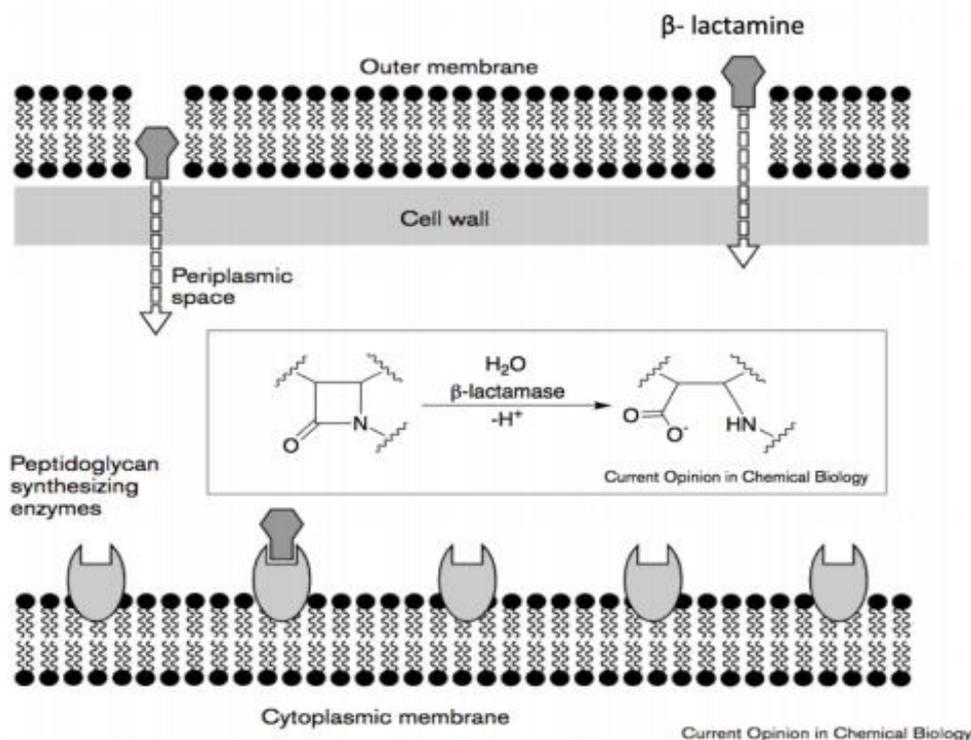


Figure 4 : Mode d'action des carbapénèmes (Oueslati, 2019).

1.2.5. L'activité microbiologique

Les carbapénèmes ont le spectre d'activité le plus large comprenant des bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif aérobies et anaérobies. Ces antibiotiques pénètrent dans l'espace périplasmique des bactéries à Gram négatif par les porines puis ils agissent sur les PLP. Ceci explique leur activité bactéricide sur les (BGN), y compris les (BLSE) Bêta-Lactamase à Spectre Etendu et les entérobactéries productrices de céphalosporinases de haut niveau, à l'exception de *Stenotrophomonas maltophilia*. Généralement, les Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de l'imipénème vis à vis des entérobactéries sont plus élevées que celles de doripénème et le méropénème. Au contraire, ces dernières molécules sont actives sur *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Tableau I)(Van Hollebeke, 2015).

Tableau I : Activité in vitro des carbapénèmes sur les bactéries à Gram négatif (Wolff et al., 2009).CMI₅₀ / CMI₉₀ exprimées en mg/l.

Bactéries	Imipénème	Méropénème	Doripénème	Ertapénème
<i>E. coli</i>	0,12/0,25	0,016/0,03	0,03/0,06	≤ 0,015/≤ 0,015
<i>E. coli</i> BLSE	0,25/0,5	0,03/0,06	0,03/0,06	0,03/0,25
<i>K. pneumoniae</i>	< 0,06/1	0,03/0,12	0,06/0,12	≤ 0,015/0,12
<i>K. pneumoniae</i> BLSE	0,25/1	0,03/0,12	0,06/0,12	0,06/0,25
<i>Proteus mirabilis</i>	0,5/2	0,06/0,06	0,12/0,25	≤ 0,06/≤ 0,06
<i>Morganella morganii</i>	2/8	0,12/0,25	0,25/0,5	≤ 0,015/0,03
<i>E. cloacae</i>	0,5/2	0,03/0,06	0,03/0,06	≤ 0,015/0,06
<i>Citrobacter freundii</i>	1/1	0,03/0,06	0,03/0,03	≤ 0,015/0,06
<i>Serratia marcescens</i>	1/2	0,06/0,12	0,12/0,25	0,03/0,12
<i>H. influenzae</i>	0,5/1	0,12/1	0,12/1	0,06/0,25
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0,06/0,12	≤ 0,015/≤ 0,015	0,12/0,25	0,06/0,25
<i>Salmonella</i> sp	≤ 0,5/≤ 0,5	0,03/0,03	0,06/0,06	≤ 0,06/≤ 0,06
<i>P. aeruginosa</i>	1/32	0,5/32	0,5/8	> 8/> 8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,25/0,25	0,25/1	0,25/1	4/> 8
<i>Stenotrophomas maltophilia</i>	> 8/> 8	> 16/> 16	>16/>16	> 8/> 8
<i>Bacteroides fragilis</i>	0,25/1	0,12/1	0,25/1	0,25/1
<i>Prevotella</i> spp	0,03/0,5	0,12/0,25	0,12/0,25	0,25-1
<i>Fusobacterium</i> spp	0,12/1	0,12/0,25	0,12/0,25	0,25/4

in vitro toutes les carbapénèmes sont actifs sur les bactéries à Gram positif, sauf sur les staphylocoques résistants à la méticilline et les entérocoques. Seul l'imipénème conserve une activité vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* (Tableau II) (Van Hollebeke, 2015).

Tableau II: Activité in vitro des carbapénèmes sur les bactéries à Gram positif (Wolff et al., 2009).

Bactéries	Imipénème	Méropénème	Doripénème	Ertapénème
<i>Staphylococcus aureus</i> (MS)	0,06/0,06	0,12/0,12	0,06/0,06	0,12/0,25
<i>S.aureus</i> (MR)	R	R	R	R
<i>Streptococcus pyogenes</i>	≤ 0,008/≤ 0,008	≤ 0,008/≤ 0,008	≤ 0,008/≤ 0,008	≤ 0,008/≤ 0,008
<i>S. agalactiae</i>	0,016/0,016	0,03/0,06	0,016/0,016	0,03/0,06
<i>S. pneumoniae</i> (PéniS)	≤ 0,06/≤ 0,06	≤ 0,015/≤ 0,015	≤ 0,015/≤ 0,015	≤ 0,015/≤ 0,015
<i>S. pneumoniae</i> (PéniR)	0,5/1	0,5/1	0,5/1	1/2
<i>Enterococcus faecalis</i>	1/4	4/8	4/8	8/32
<i>E. faecium</i>	> 8/> 8	> 16/> 16	> 16/> 16	> 16/> 16
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,03/0,12	0,12/0,12	Pas de données	0,25/0,5
<i>Peptostreptococcus</i> spp	0,03/0,06	0,12/0,25	0,12/0,25	0,25/4

CMI₅₀ / CMI₉₀ exprimées en mg/l.

CHAPITRE II: Mécanismes de résistance aux carbapénèmes

CHAPITRE II: Mécanismes de résistance aux carbapénèmes

Il convient de noter que la résistance aux carbapénèmes est intrinsèque chez certaines espèces. La résistance intrinsèque aux carbapénèmes n'est pas courante parmi les bactéries cliniquement importantes et, pour la plupart d'entre elles, la résistance aux carbapénèmes est acquise par des événements mutationnels ou par l'acquisition de gènes via un transfert horizontal de gènes (Mélétis, 2016).

II.1. Mécanisme enzymatique

Les carbapénémases décrites chez les entérobactéries appartiennent aux quatre classes connues de carbapénémase (classe A, B, C, D de la classification d'Ambller) (Grall et al., 2011). Les plus importantes, cliniquement, sont actuellement les carbapénémase de type (KPC) *Klebsiella Pneumoniae* Carbapénémase (Figure 5), (IMP) Active on Imipenem, (VIM) Verona integron-encoded metallo- β -lactamase et (OXA-48) Oxacillinase. (Nordmann et Carrer, 2010).

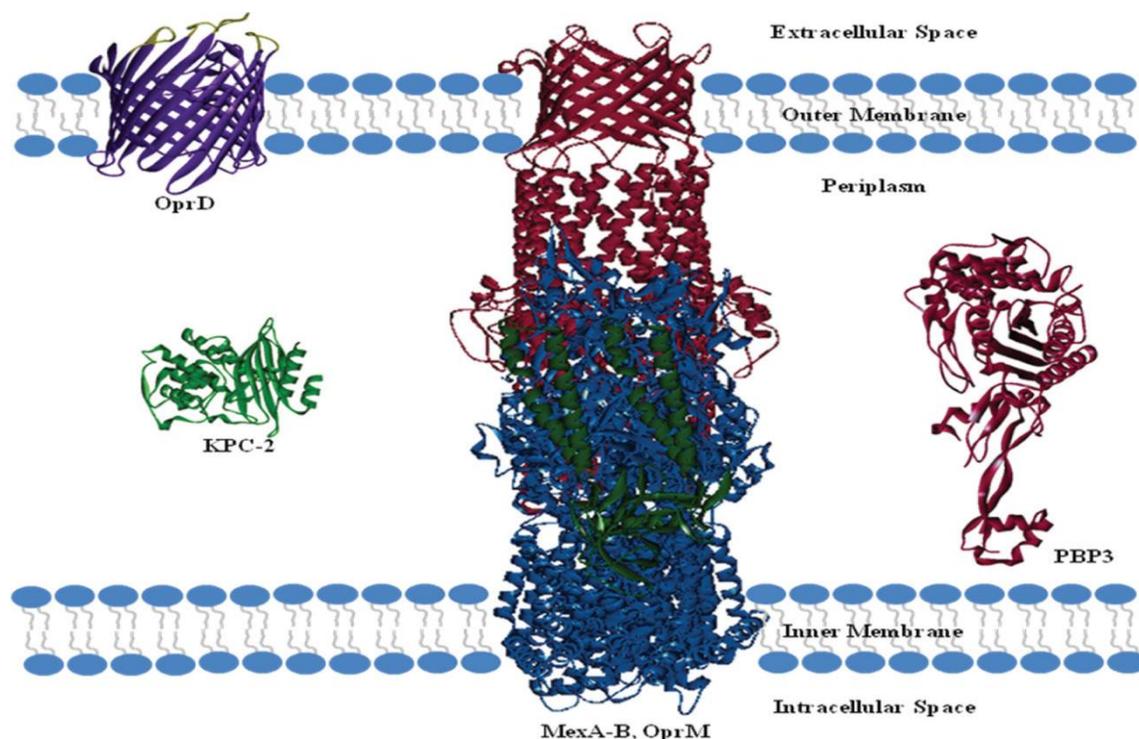


Figure 5 : la structure des carbapénémase KPC-2 en cristal (Banque des données sur les protéines [PDB] identifier 2OV5), présente dans le périplasma, *P. aeruginosa* (Papp-Wallace et al., 2011).

II.1.1. Types des carbapénèmases

La classification moléculaire des carbapénèmases indique une grande variété de ces enzymes a été identifiée chez les *Enterobacteriaceae* appartenant à 4 classes qui sont de la plus grande clinique importance parmi les agents pathogènes nosocomiaux (**Figure 6**) (Codjoe et Donkor, 2017).

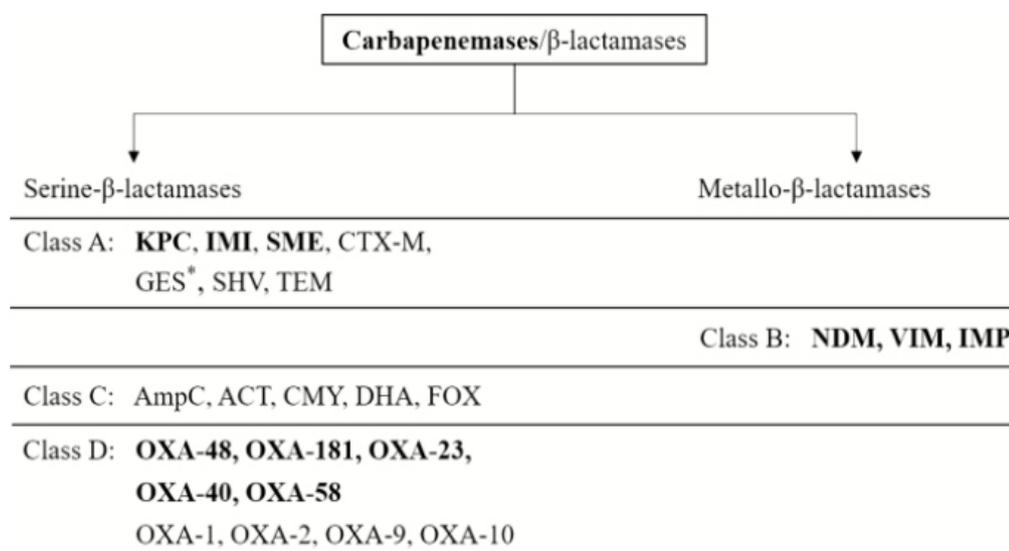


Figure 6: Classement des carbapénèmases selon les différentes classes d'Ambler (Santucci, 2022).

A) Carbapénèmases de classe A

Ce sont des enzymes plasmidiques ou plus rarement chromosomiques comme les Imipenem-hydrolyzing β -lactamase (IMI). Il ya KPC c'est la carbapénémase plasmidique la plus fréquemment rencontrée (Choquet, 2016).

La première souche productrice de (KPC-1) a été isolée en 1996 aux Etats-Unis. Il s'agit d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* résistante à toutes les β -lactamines. (Jousset, 2018). Les carbapénèmases de type KPC ont été décrites chez plusieurs entérobactéries mais aussi chez *P. aeruginosa*. (Cuzon et al., 2010). Les gènes bla_{KPC} ont largement été caractérisés avec une localisation plasmidique qui sont largement associés au transposon Tn4401, il y a 8 isoformes de ce transposon ont été identifiées qui se distinguent les uns des autres par des délétions de taille variable en amont du gène bla_{KPC} et parmi ces isoformes les plus largement répandus sont **a** et **b**. (Figure 7) (Oueslati, 2019).

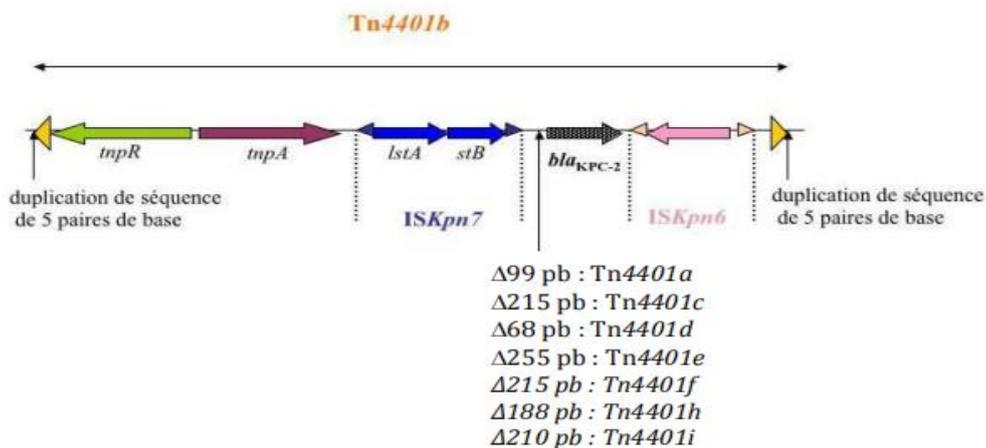


Figure 7 : Représentation schématique des différentes structures du transposon Tn4401 identifiées sur différents plasmides porteurs du gène *bla_{KPC}* (Jousset, 2018).

Spectre d'hydrolyse de KPC

Les données biochimiques indiquent que les enzymes de type (KPC) sont capables d'hydrolyser toutes les β -lactamines : pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames. Parmi les Céphalosporines de troisième génération, le cefotaxime c'est la molécule la plus hydrolysée. l'acide clavulanique et le tazobactam inhibent l'activité hydrolytique des β - lactamases de type (KPC). (Tableau III) (Cuzon et al., 2010).

B) Carbapénèmases de classe B

Les métallo- β -lactamases (MBL) comme NDM (New Delhi Métallo- β -lactamase), VIM, IMP, appartient à la classe B de la classification d'Ambler. Les MBL diffèrent des sérines carbapénèmases c'est à dire les autres classes par la présence d'ions zinc au niveau du site actif qui catalysent la réaction enzymatique. (Choquet, 2016).

Carbapénèmases VIM (Verona integron-encoded metallo- β -lactamase)

Pour la première fois la carbapénèmase VIM-1 a été décrite dans une souche de *P. aeruginosa* isolée à Vérone, Italie. Ensuite, le second variant VIM-2 a été identifié en France. Actuellement, il y a 57 variants, principalement chez *P. aeruginosa*, mais aussi chez *A. baumannii* et certaines espèces d'entérobactéries comme *Klebsiella spp* et *Escherichia. coli*. De nombreuses épidémies dues à des souches productrices de VIM ont été décrites. Maintenant le carbapénèmase (VIM)

est répandue endémiquement en Grèce, Italie et en Russie (*P. aeruginosa*) (**Oueslati, 2019**).

Les différents variants du gène *bla_{VIM}* sont localisés au sein d'intégrons de classe 1 sous forme de gènes cassettes soit sur le chromosome soit sur des plasmides, et sont habituellement insérés dans un transposon de type Tn402 Chez *P. aeruginosa*. (**Jousset, 2018**).

Spectre d'hydrolyse

Les métallo β -lactamases de type VIM dégradent toutes les β -lactamines, à part les monobactames. VIM-2 se caractérise par une forte activité hydrolytique sur l'imipénème, le méropénème, la ceftazidime, le céfépime et la ticarcilline, plus faible sur la pipéracilline. VIM-2 est inhibée in vitro par l'Éthylène Diamine Tétra Acétique EDTA, ce qui permet de la détecter facilement par des Tests de synergie (**Tableau III**) (**Jeannot et Plésiat, 2016**).

C) Carbapénémases de classe C

Les enzymes appartenant à la classe C sont dérivés du gène AmpC présent dans le génome de nombreux membres du genre *Enterobacteria* et sont fonctionnellement des céphalosporinases. Ils sont résistants aux acides clavulaniques mais sensibles aux céphamycines, telles que la céfoxitine et ceftazidime. Bien que le niveau d'expression d'AmpC soit faible généralement, elle peut être induite par l'administration d'un pénicilline ou l'acide clavulanique et peut présenter une résistance aux carbapénèmes lorsqu'elle est exprimée en grande quantité. Certaines β -lactamases appartenant à ce groupe ont été codés sur un plasmide. La plus importante préoccupation est que les variantes de l'AmpC contribue à la sensibilité réduite aux carbapénèmes. Ces β -lactamases sont connues sous le nom d'ESAC (Extended Spectrum AmpC) (**Sawa et al., 2020**).

Spectre d'hydrolyse

Leur spectre d'hydrolyse comprend les pénicillines et les céphalosporines de première génération et certaines de deuxième génération. L'hydrolyse des carboxypénicillines, des uréïdopénicillines, de l'aztréonam et des céphalosporines du troisième génération est observée en cas d'hyperproduction de ces enzymes. On parle

alors de «céphalosporinases de haut niveau ». Les céphalosporines de quatrième génération et les carbapénèmes ne sont pas, ou peu, hydrolysées (**Oueslati, 2019**).

D) Carbapénémases de classe D

Les carbapénémases du type OXA, ont une faible activité vis-à-vis des carbapénèmes. Ces enzymes sont faiblement inhibées par l'EDTA ou l'acide clavulanique, mais peuvent être inhibées rapidement *in vitro* par le chlorure de sodium (NaCl) (**Codjoe et Donkor, 2017**). Ce sont des enzymes à sérine active. Elles ont été nommées Oxacillinase car elles hydrolysaient plus rapidement l'oxacilline et la cloxacilline que la benzylpénicilline. Mais, cette définition n'est plus valable car certaines oxacillinases ont été décrites comme hydrolysant peu ou pas la cloxacilline ou l'oxacilline. En revanche, toutes les oxacillinases hydrolysent les aminopénicillines et les carboxypénicillines (**Choquet, 2016**).

Carbapénémase OXA-48 (Oxacillinase-48)

Cet enzyme de la classe D d'Amber pour la première fois a été identifiée chez *K. pneumoniae* en 2003, en Turquie. Depuis, des épidémies nosocomiales de bactéries productrices ont été rapportées depuis la Turquie. Jusque à 2010, OXA-48 n'a été identifiée que dans des souches isolées chez des patients hospitalisés en Turquie ou ayant un lien avec la Turquie. En quelques années, la distribution de la carbapénémase OXA-48 et de ses variants est devenue mondiale concerne principalement l'Europe et l'Afrique actuellement (**Abbas et al., 2012**).

Spectre d'hydrolyse

C'est une enzyme à spectre étroit qui peut hydrolyser toutes les pénicillines et les céphalosporines à spectre étroit. Les céphalosporines à large spectre sont hydrolysées faiblement. OXA-48 hydrolyse toutes les carbapénèmes à très faible niveau avec une efficacité catalytique 100 fois plus forte pour l'imipénème par rapport aux autres (**Tableau III**) (**Oueslati et al.,2015**).

Tableau III: Principales carbapénémases chez les entérobactéries : support génétique, spectre d'hydrolyse et molécules actives (**Chassagne, 2012**)

Classe d'Ambler	Enzymes	Support génétique	Spectre d'hydrolyse						Inhibiteur(s)
			pénicillines	C1G	C2G	C3G	ATM	carbapénèmes	
A	SME-1 à -13	chromosome	++	++	-	+	+	+	acide clavulanique, tazobactam, sulbactam
	NMC-A	chromosome	++	++	-	+	-	++	
	IMI-2	plasmide	++	++	-	+	-	++	
	GES-4, -5, -6	plasmide	++	++	+	+	-	+	
	KPC-2 à -12	plasmide	++	++	-	++	+	++	acide clavulanique, tazobactam, sulbactam, acide boronique
B	IMP-1 à -33	plasmide	++	++	++	++	-	++	EDTA
	VIM-1 à -33	plasmide	++	++	++	++	-	++	
	NDM-1 à -6	plasmide	++	++	++	++	-	+	
D	OXA-48	plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	NaCl
	OXA-181	plasmide	++	++	+/-	+/-	-	+	

II.2.Mécanisme non enzymatique

II.2.1. Association de mécanismes

La membrane externe est la première ligne de défense pour les bactéries à Gram négatif. Elle est composée d'une bicouche lipidique qui est imperméable aux grosses molécules chargées, l'efflux est contrôlé par les porines. Chez les entérobactéries la résistance aux carbapénèmes la plus fréquent est dû par l'association de mécanismes de résistance, comme par exemple une production de β -lactamase couplée à une altération de porines qui sont des protéines membranaires formant des canaux permettent le passage par diffusion de molécules hydrophiles où se trouvent les antibiotiques. La sensibilité des entérobactéries aux carbapénèmes dépend de la fonctionnalité de ces porine qui sont empruntées par les antibiotiques appartiennent surtout aux familles de protéines OmpF et OmpC. La régulation de leur synthèse est par la présence d'agents antimicrobiens. Lorsqu'elles sont modifiées structurellement ou diminuées, la bactérie présente une imperméabilité acquise aux carbapénèmes. Cette résistance est instable et réversible, s'observe surtout en association avec la production de β -lactamases, soit des céphalosporinases

déréprimées AmpC, soit des BLSE (Riethmuller, 2013).

II.2.2. Altération des protéines de liaison des pénicillines (PLP)

Ce mécanisme reste rare concernant l'altération de certaines PLP chez *Pseudomonas mirabilis* peut être à l'origine de résistances à l'imipénème (Riethmuller, 2013).

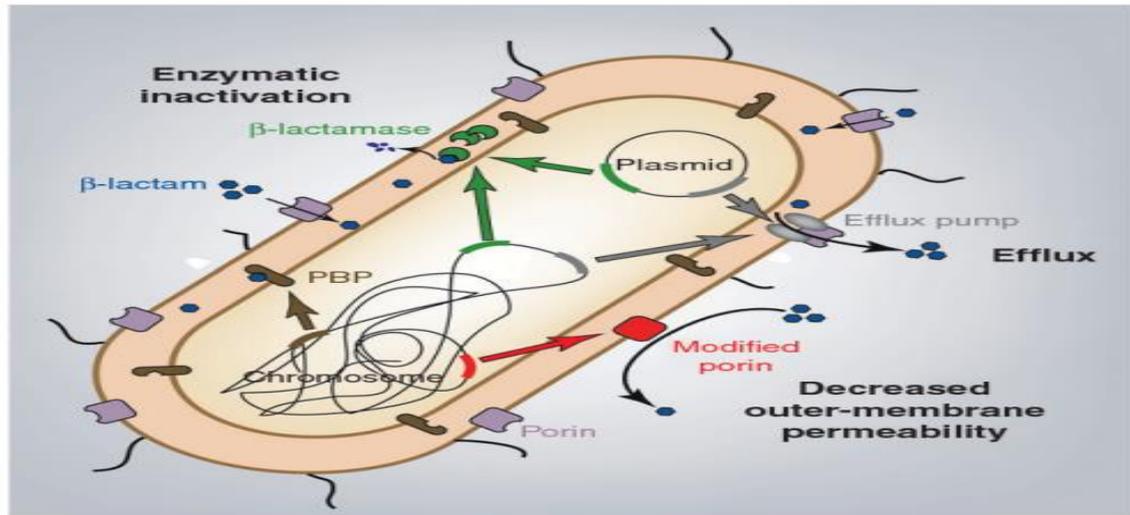


Figure 8 :Mécanisme de résistance aux carbapénèmes (Nordmann et al., 2012).

CHAPITRE III : Les bactéries multirésistantes émergentes

CHAPITRE III : Les bactéries multirésistantes émergentes

III.1. Définition

Les « bactéries multirésistantes aux antibiotiques » (BMR) sont définies comme des microorganismes ayant accumulé des résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques. La multirésistance est une étape qui précède l'impasse thérapeutique. Le taux de BMR fait partie des indicateurs d'activité et de qualité, et des référentiels d'accréditation des établissements de santé. Au niveau européen, un consensus récent a défini 3 niveaux de résistance aux antibiotiques :

Multi-drug resistant bacteria (MDR) (résistance à plus de 3 familles différentes d'antibiotiques).

Extensively-drug resistant bacteria (XDR) (sensibilité conservée uniquement pour une ou deux classes d'antibiotiques).

Pan-drug resistant bacteria (PDR) (résistance à tous les antibiotiques) (**Gagnaire et al., 2015**).

III.2. Types des BMR

La multirésistance est une étape vers l'impasse thérapeutique. La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires (ex : pneumocoques, bacilles de la tuberculose) et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins (**Tableau IV**) (**Khiev et Veber, 2010**).

Tableau IV : Les principaux BMR communautaires et hospitaliers (**Khiev et Veber, 2010**)

Les principaux BMR communautaires	Les principaux BMR hospitaliers
<ul style="list-style-type: none"> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Mycobacterium tuberculosis</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM) d'origine communautaire 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM) - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multi-résistant aux antibiotiques (PAMR) - <i>Acinetobacter baumannii</i> résistant à l'imipénème (ABRI) - Entérobactérie productrice d'une bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) - Les entérocoques résistants à la vancomycine ou glycopeptides (ERV) - Entérobactéries productrices de carbonarismes (EPC)

III.2.1. Entérobactéries productrices de carbapénèmes EPC

Les entérobactéries sont des BGN rassemblés dans la Famille des *Enterobacteriaceae*. Phylum des *Proteobacteria*. Classe des *Gammaproteobacteria*. Ordre des *Enterobacteriales* regroupant 53 genres différents ayant généralement en commun leur habitat, le tube digestif de l'homme ou des animaux, ainsi que les caractéristiques suivantes : la mobilité en fonction de la présence ou non de flagelles ; une fermentation du glucose avec ou sans production de gaz ; une capacité de réduction des nitrates en nitrites ; une possibilité de se multiplier en milieu anaérobie ou aérobie ; une absence de spores ; et l'absence de cytochrome C oxydase (**Riethmuller, 2013**).

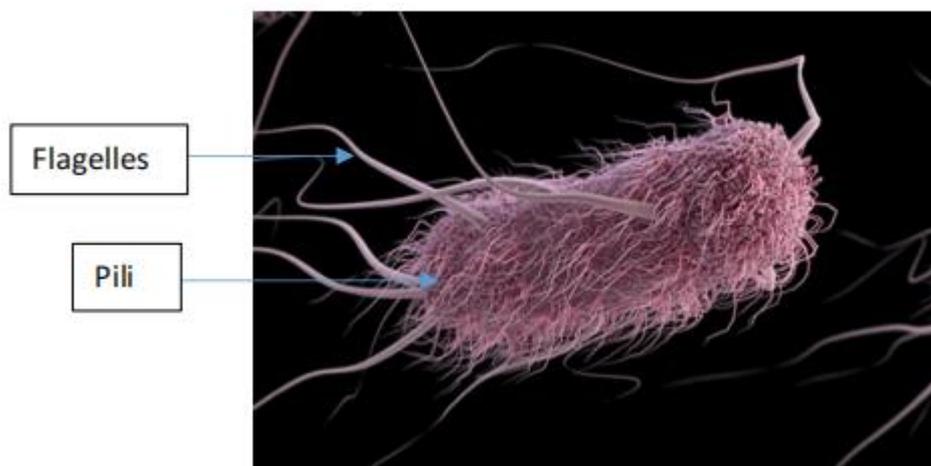


Figure 9 : Image d'entérobactérie en microscopie à balayage (**Ricard, 2021**).

Les entérobactéries constituent les pathogènes humains les plus fréquemment isolés dans un laboratoire de bactériologie, en milieu communautaire comme hospitalier. Elles sont notamment responsables d'infections urinaires, pulmonaires, abdominales et de septicémies. Les bactéries des genres *Escherichia* et *Proteus* prédominent dans la flore commensale intestinale. Elles se comportent parfois comme des pathogènes opportunistes (**Riethmuller, 2013**).

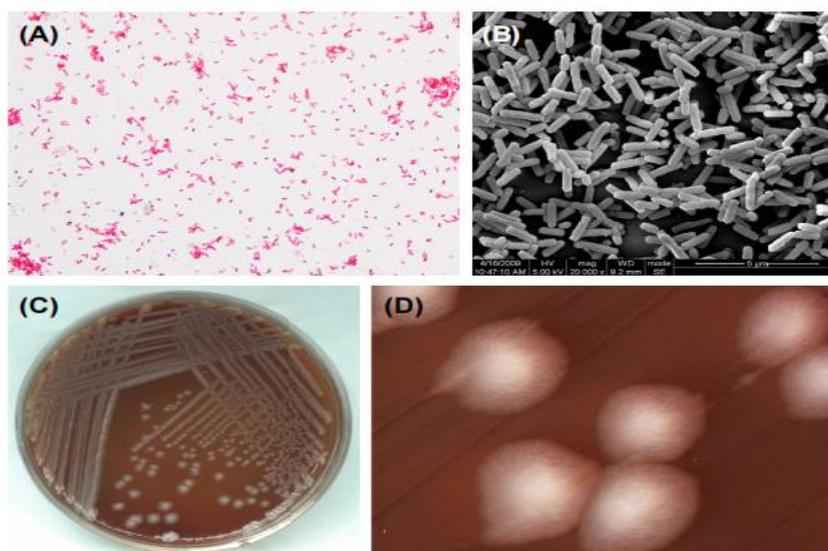


Figure 10 : Images d'*Escherichia coli* (A) Cellules d'*Escherichia coli* (coloration de Gram). (B) Cellules d'*E. coli*. (C) Colonies d'*E. coli* (gélose au sang). (D) Colonies d'*E. coli* (stéréomicroscope) (Zhou et Li, 2021).

III.2.1.1. Mécanisme de résistance des entérobactéries aux carbapénèmes

Les entérobactéries expriment leur résistance aux carbapénèmes par différents mécanismes. Parmi ces mécanismes, la production d'une catégorie d'enzymes dénommée carbapénémases (Boivin et al., 2016). Il existe deux types de résistances aux carbapénèmes :

La première est une combinaison d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou d'une (BLSE) avec une diminution quantitative ou qualitative des porines au travers desquelles traversent les carbapénèmes. Ce mécanisme de résistance peut être retrouvé chez des bactéries ayant une céphalosporinase naturelle comme *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, mais également chez des bactéries ayant acquis une céphalosporinase plasmidique ou une BLSE, tels *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp...

Le second mécanisme de résistance repose sur les carbapénémases, c'est-à-dire sur des β - lactamases à fort pouvoir hydrolytique contre les carbapénèmes. Il est bien plus préoccupant, car il est stable et qu'il compromet l'efficacité de presque toutes les β -lactamines (Holman, 2016).

III.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Il s'agit d'une bactérie à Gram négatif appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria*, à l'ordre des *Pseudomonadales*, à la famille des *Pseudomonadaceae* et au genre *Pseudomonas*. Le genre *Pseudomonas* dits à

métabolisme oxydatif, ou non fermentants, car incapables de fermenter les sucres en anaérobiose. Il comprend plus de 140 espèces, la principale impliquée en pathologie humaine étant *P. aeruginosa* (Massri, 2016). Les symptômes cliniques se manifestent par : pneumonies, bactériémies, les infections cutanées, les infections oculaires, les infections des voies urinaires et les infections de l'oreille (Deroche, 2023).

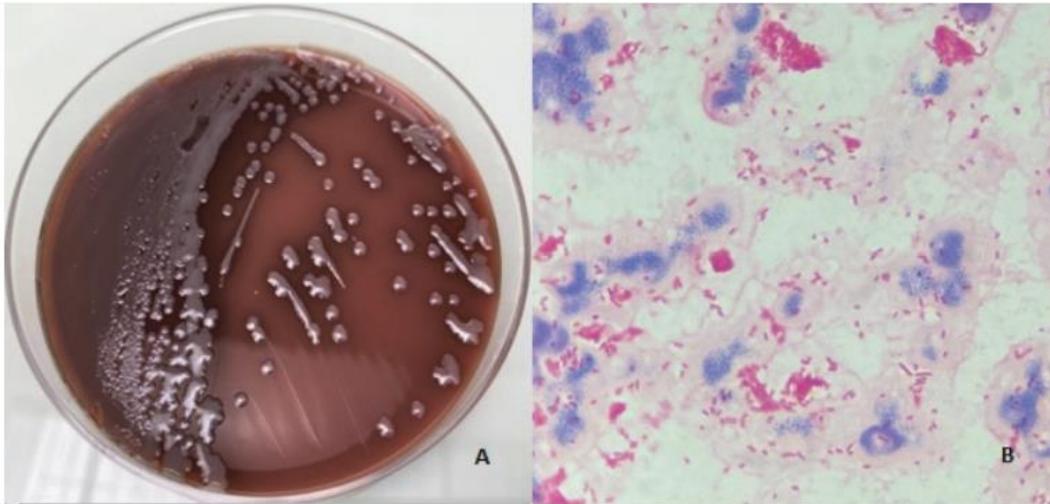


Figure 11 : Processus d'identification d'un isolat de *P. aeruginosa* à partir d'un prélèvement clinique : (A) Colonies de *P. aeruginosa* sur gélose chocolat polyvitex (PVX) ; (B) Examen direct d'une hémoculture à *P. aeruginosa*. - Coloration de Gram x500 (Sardi, 2021).

III.2.2.1. Mécanisme de résistance

P. aeruginosa est naturellement sensible à l'imipénème, au méropénème et au doripénème, mais naturellement résistant à l'ertapénème. La résistance aux carbapénèmes peut être le résultat de mécanismes assez différents qui sont éventuellement associés. Durant ces dernières années, nombreuses carbapénémases ont été largement décrites chez *P. aeruginosa*. Toutes les souches de *P. aeruginosa* produisent une β -lactamase à large spectre, dénommée AmpC, dont l'expression peut être induite par certaines beta lactamines comme les carbapénèmes et la céfoxitine, ou encore l'acide clavulanique (Jeannot et Plésiat, 2016). Aussi, métallo-de β -lactamase sont les plus fréquentes chez cet espèce ce groupe est connu sous le nom de carbapénémase ou métallo-de β -lactamase (MBL) (Touati, 2013). Il y a les oxacillinasés ont le spectre s'est entendu dans certains cas aux Céphalosporines 3G et dans d'autres aux carbapénèmes. Chez *P. aeruginosa*, les BLSE dérivées d'OXA-10 et

OXA-2 ont été isolées (OXA- 10, 11, 14, 15,16, 19) ainsi que la β -lactamase OXA-18. (Nordmann, 2010).

III.2.3. *Acinetobacter baumannii*

Les bactéries du genre *Acinetobacter* ont été découvertes en 1911 par le bactériologiste néerlandais Martinus Willem Beijerinck, qui les a d'abord isolées du sol et appelées *Micrococcus calcoaceticus* (Camilli, 2022).

Acinetobacter baumannii est un bacille Gram négatif non fermentaire, présent dans l'environnement et commensal des muqueuses de l'homme. Depuis quelques années, ce germe est considéré comme un pathogène opportuniste responsable d'un taux croissant d'infections nosocomiales sévères. Plusieurs épidémies dues à cette bactérie ont été répertoriées, touchant principalement les patients immunodéprimés, sous une antibiothérapie et exposés à des séjours prolongés (Nicol, 2017).

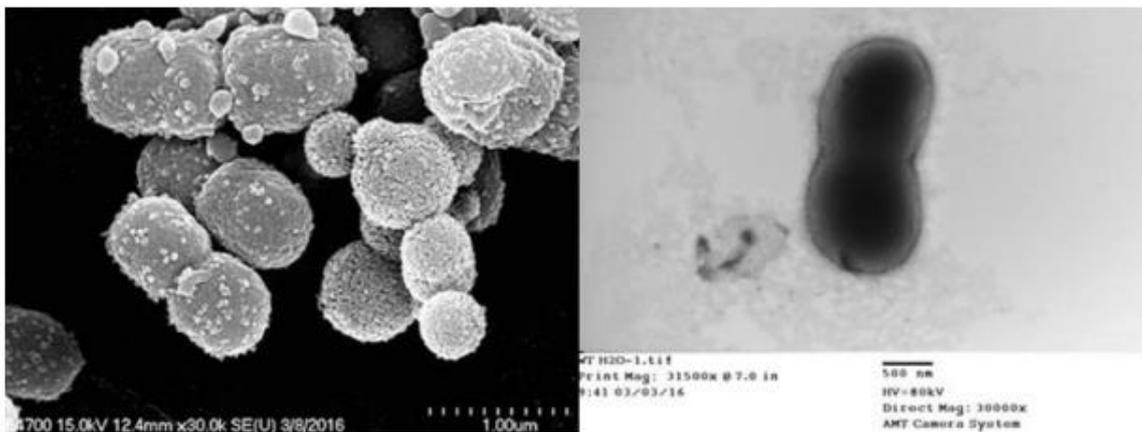


Figure 12 : Images d'*A. baumannii* American Type Culture Collection (ATCC) 17978 en microscopie électronique en transmission (MET) (gauche) et à balayage (MEB) (droite)(Camilli,2022).



Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies d'*Acinetobacter*. (A) colonies d'*A. baumannii* ATCC 17978 formées sur milieu Yesca après 24h d'incubation à 37°C. (B) Colonies d'*A. baumannii* ATCC 19606 formées sur milieu Muller Hinton MH Agar après une incubation de nuit à 37°C. (C) Colonies d'*A. baumannii* ACICU (gauche) et d'*A. baumannii* ATCC 19606 (droite) formées sur milieu MH Agar après 5 jours d'incubation à 37°C (Nicol, 2017).

III.2.3.1. Mécanisme de résistance

La résistance aux carbapénèmes est problématique chez *A. baumannii* puisque ces molécules sont considérées comme le traitement de choix des infections impliquant ce germe. Lorsque ce germe est résistant aux carbapénèmes, les possibilités thérapeutiques deviennent très limitées. Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* (Figueiredo, 2011).

Il existe deux types d'enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes qui ont été rapportées chez *A. baumannii*. Il s'agit d'une part des carbapénémases ou β -lactamases de la classe B de Ambler qui sont des métallo-enzymes possédant un spectre de substrat très large et identifiées dans d'autres espèces bactériennes à Gram négatif et d'autre part des oxacillinases (ou β -lactamases de classe D) possédant un pouvoir hydrolytique faible vis-à-vis des carbapénèmes, épargnant les céphalosporines à large spectre et identifiées presque uniquement chez *A. baumannii* à ce jour (Poirel et Nordmann, 2006).

L'implication de systèmes d'efflux naturels ou acquis dans la multirésistance aux antibiotiques chez *A. baumannii* est de plus en plus étudiée. Parmi les superfamilles de pompes d'efflux, les systèmes (RND) Resistance-Nodulation-Division sont les plus prévalents chez *A. baumannii* (**Figueiredo, 2011**).

**CHAPITRE IV: Méthodes
d'identification des souches productrices de
carbapénèmases**

CHAPITRE IV: Méthodes d'identification des souches productrices de carbapénèmases

IV.1. Méthodes phénotypiques

Les méthodes phénotypiques sont basées sur l'évaluation de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques (Choquet, 2016). Il existe différentes techniques phénotypiques pour la détection des souches productrices de carbapénémase *in vitro*. Les tests phénotypiques de détection des carbapénèmases regroupent les méthodes d'inhibition et les tests d'hydrolyse, dont certains permettent d'obtenir un résultat rapide, ainsi que des méthodes immunochromatographiques (Tidrarine, 2019).

IV.1.1. Les méthodes d'inhibition

IV.1.1.1. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)

L'estimation des concentrations minimales inhibitrices aux carbapénèmes est un moyen plus précis pour détecter la diminution de sensibilité d'une souche à ces antibiotiques. Le carbapénème qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des EPC. Ainsi toute souche possédant une diminution de sensibilité à la carbapénème (CMI > 0,5 mg/L ou un diamètre d'inhibition < 28 mm par test de diffusion en gélose est à considérer comme suspecte d'EPC ; ces seuils ont été définis de manière à détecter le maximum de souches productrices de carbapénémase (Tableau V) (Grall et al., 2011).

Tableau V : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) critiques (mg/L) pour les carbapénèmes selon (CA-SFM) et (EUCAST) (Grall et al., 2011)

	Imipénème	Méropénème	Ertapénème	Doripénème
<i>Entérobactéries</i>				
S (≤)	2	2	0,5	1
R (>)	8	8	1	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
S (≤)	4	2	—	1
R (>)	8	8	—	4
<i>Acinetobacter spp.</i>				
S (≤)	2	2	—	1
R (>)	8	8	—	4

IV.1.1.2. Test de disques combinés

Le principe de cette méthode est de comparer les diamètres des zones d'inhibition entre un disque de carbapénème et un carbapénème avec un disque inhibiteur sur la plaque de culture (**Figure 14**). Plusieurs composés ont été utilisés comme inhibiteurs pour cette méthode. Par exemple, l'acide boronique et ses dérivés dont l'acide phénylboronique et l'acide 3-aminophénylboronique (APBA) ont été utilisés comme inhibiteur de carbapénémase de classe A. Les agents chélateurs tels que l'EDTA sont souvent utilisés pour inhiber les carbapénémases de classe B. (**Thirapanmethee, 2020**). Le résultat positif est obtenu lorsque le diamètre d'inhibition d'un carbapénème avec un inhibiteur plus large qu'un carbapénème seul de plus de 7 mm (**Figure 14**). Cependant, les critères utilisés pour l'interprétation peuvent varier en fonction des types d'inhibiteurs et d'enzymes (**Thirapanmethee, 2020**).

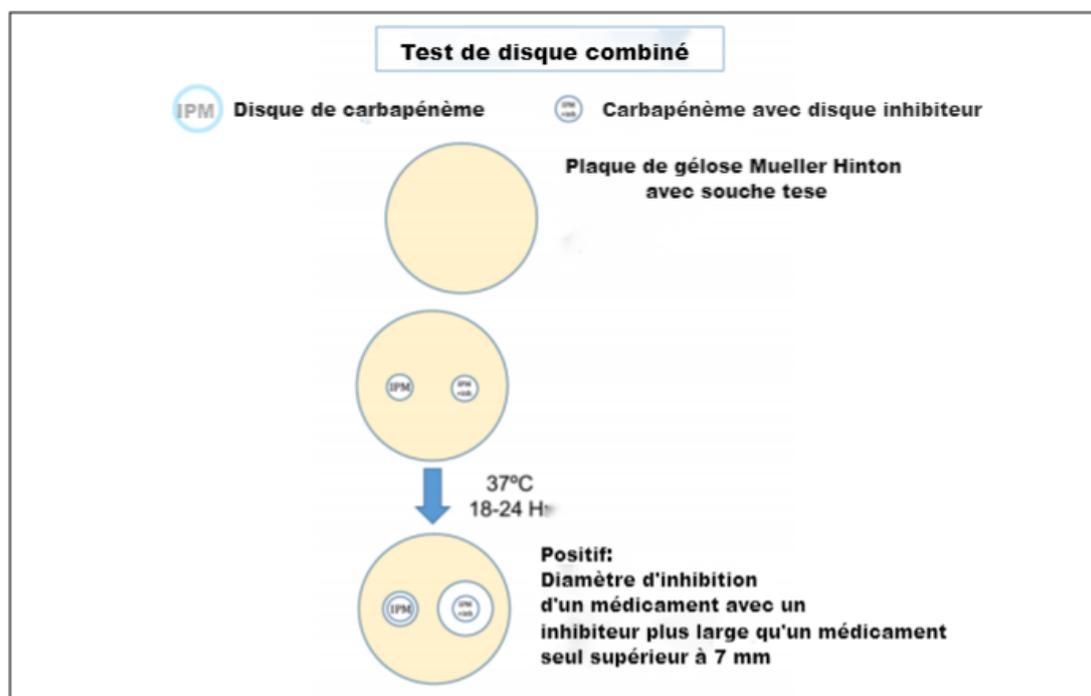


Figure 14 : Diagramme schématisant le test de disque combiné (**Thirapanmethee, 2020**).

A. CIM-test et dérivés

Le test Carbapenem Inactivation Method (CIM) a été développé comme un test sensible, spécifique et peu coûteux pour la détection des carbapénémases. Le principe

de ce test est basé sur l'inactivation *in vitro* du méropénème contenu dans un disque chargé à 10µg par les souches productrices de carbapénèmases. La méthode de ce test est la suivante :

- 1) Incubation d'un disque de méropénème dans une suspension de la souche à tester ;
- 2) Incubation de ce disque de méropénème avec une souche d'*Escherichia coli* de référence sensible au méropénème ;
- 3) Après cette étape d'incubation, détection de l'activité carbapénémase :
 - L'absence de zone d'inhibition autour du disque de méropénème signe une hydrolyse de ce carbapénème au cours de la première incubation ;
 - Une zone nette d'inhibition autour du disque montre l'absence d'activité carbapénémase (Figure 15) (Tidrarine, 2019).

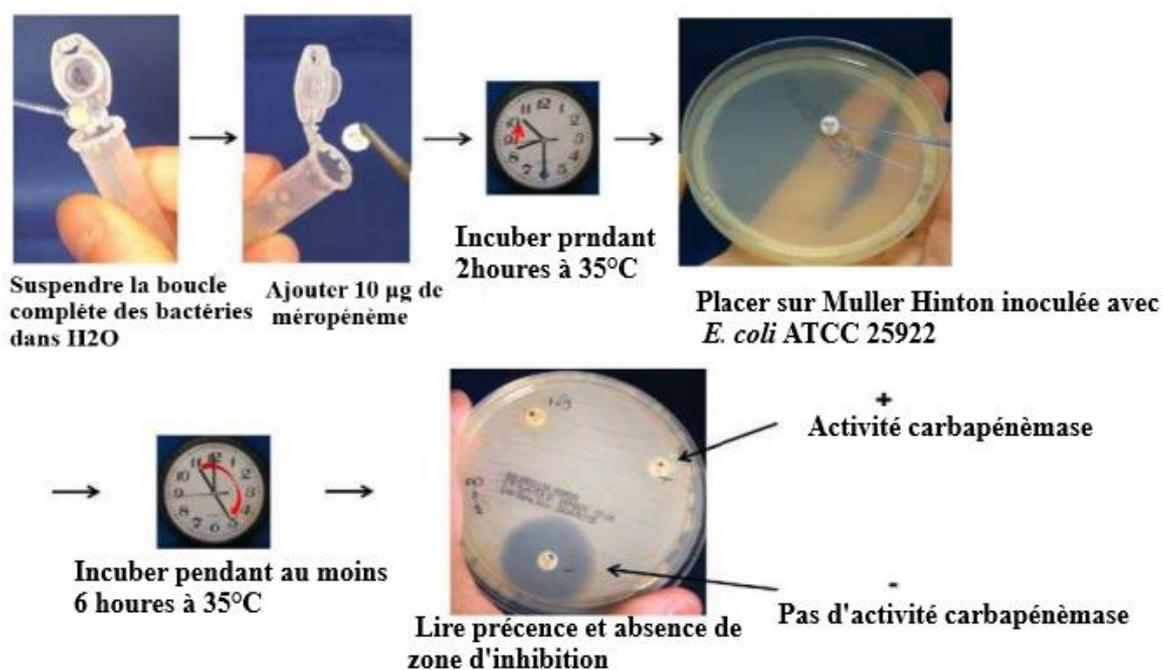


Figure 15 : Protocole pour la réalisation du CIM-test (Jousset, 2018).

Le modified-CIM (mCIM) est une version légèrement modifiée du (CIM) qui permet d'augmenter la sensibilité du test pour la détection des carbapénèmases de type OXA-48, notamment en prolongeant l'incubation du disque de méropénème avec la souche à tester à 4h. Le (mCIM) a fait l'objet d'une évaluation multicentrique, et a été intégré aux recommandations américaines du (CLSI) pour la détection des (EPC) avec spécification de diamètres limites (Jousset, 2018).

B. Test de Hodge modifié

Le test de Hodge modifié (THM ou clover leaf method) est un test phénotypique qui a été très largement utilisé pour la détection des carbapénémases. C'est actuellement la seule méthode de détection recommandée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Sa réalisation est relativement simple : une souche d'*E.coli* est ensemencée sur une gélose (MH) et un disque de carbapénème est déposé au centre de la boîte ; la souche à tester est ensemencée par une strie partant du disque d'antibiotique jusqu'au bord de la boîte. Après incubation pendant 18h à 37°C, la présence d'une carbapénémase est révélée par une déformation de la zone d'inhibition due à l'activité enzymatique autour du disque d'antibiotique proche de la souche suspecte (**Figure 16**) (**Riethmuller, 2013**).

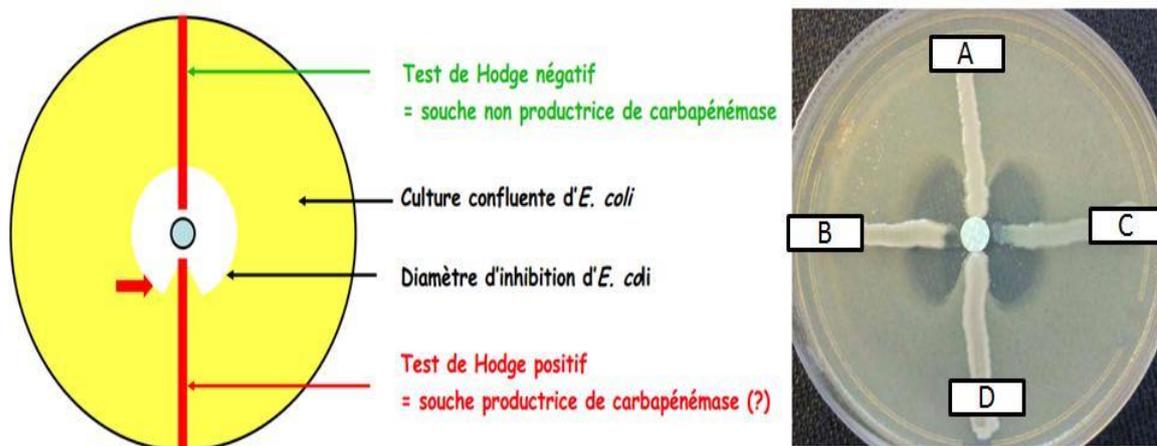


Figure 16 : Principe du test de Hodge modifié (**Riethmuller, 2013**).

IV.1.2. Tests d'hydrolyse

IV.1.2.1. Tests colorimétriques

Les tests d'hydrolyse basés sur des méthodes colorimétriques détectent l'activité des β -lactamases via une variation de couleur du milieu réactif liée à l'activité hydrolytique. Ce changement de coloration est dû à une modification biochimique du milieu telle qu'une acidification (**Moguet, 2023**).

A. Le Carba NP

Cette méthode a été développée par Nordmann et Poirel (NP) en 2012 pour détecter la production de carbapénémases chez les *Enterobacterales*

(Thirapanmethee, 2020). Ce test permet une détection de l'hydrolyse d'un carbapénème (imipénème) par une carbapénémase générant une acidification du milieu (modification d'un indicateur coloré) (Figure 17). Le résultat de ce test est particulièrement rapide (moins d'une heure) et ne nécessite aucun matériel additionnel ni de personnel entraîné. Il est parfaitement sensible et spécifique (100%) et permet d'identifier tous types des carbapénémases. Le Carba NP test peut être réalisé à partir de souches isolées mais aussi de prélèvements cliniques (hémocultures ou urines) (Nordmann et Poirel, 2014).

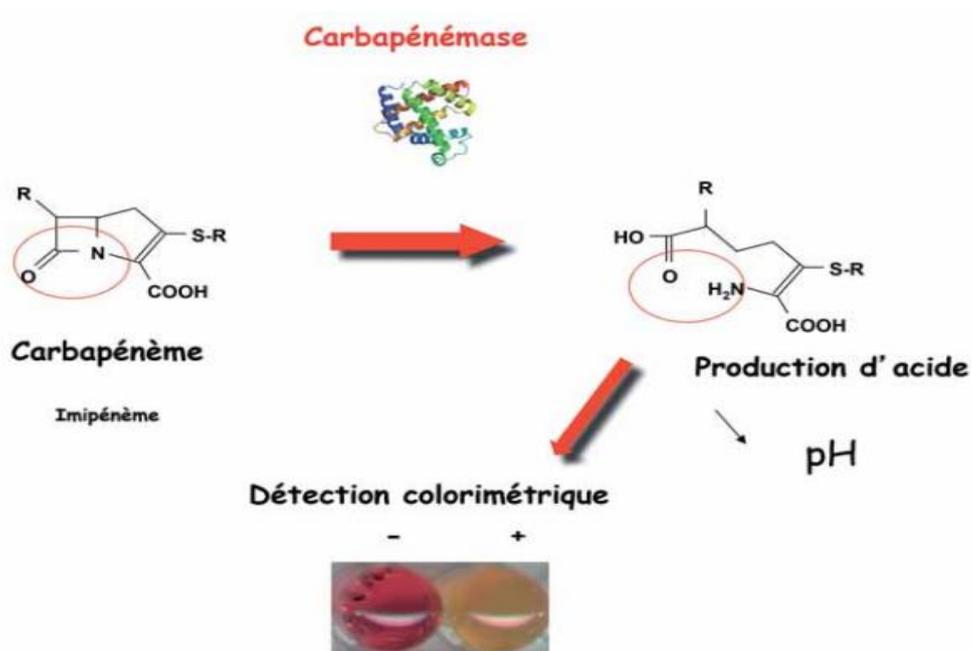


Figure 17 : Principe du Carba NP test (Nordmann et Poirel, 2014).

IV.1.2.2. Identification d'une activité carbapénémase par spectrométrie de masse

Les produits d'hydrolyse des carbapénèmes par des enzymes peuvent être identifiés par spectrométrie de masse à temps de vol (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time Of Flight) (MALDI TOF). La technique consiste à incuber de 20 minutes à 2 heures une solution de carbapénème avec la souche à tester. Après centrifugation, le surnageant est analysé en spectrométrie de masse pour mettre en évidence la disparition du pic correspondant à l'antibiotique utilisé et à l'apparition du ou des produits de son hydrolyse. Les résultats obtenus montrent des sensibilités et spécificité proches de 100 % à partir de souches isolées (Figure 18) (Boutal, 2017).

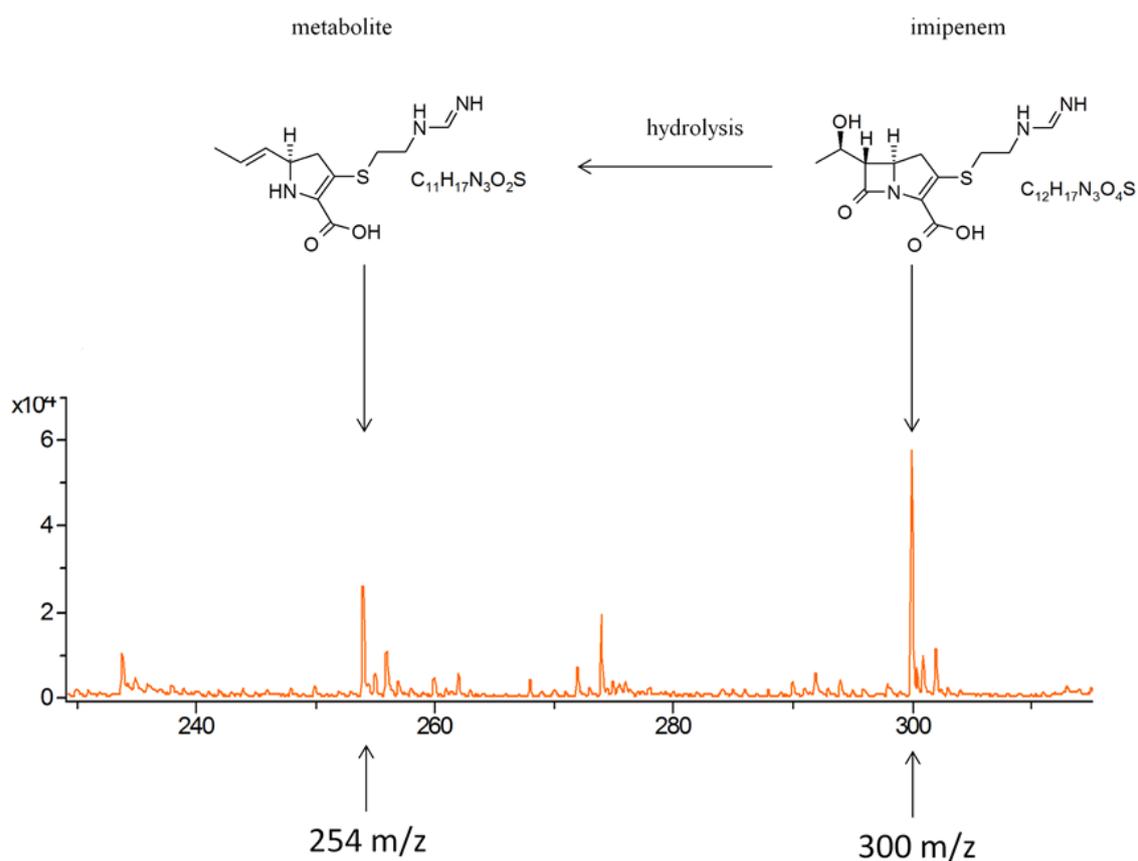


Figure 18 : MALDI TOF : imipénème avant et après hydrolyse (Boutal, 2017).

IV.1.3. Tests immunochromatographiques

Cette méthode détecte directement la production de l'enzyme responsable de la résistance. De plus, contrairement aux tests phénotypiques et biochimiques, ils ne sont pas influencés par l'activité enzymatique même faible de l'enzyme. Ce test est présenté sous forme de cassettes qui intègrent une bandelette qui permet la détection de l'enzyme recherchée (**Figure 19**). Pour réaliser ce test les bactéries sont mises en contact avec un tampon d'extraction puis l'extrait est déposé sur la cassette. Les résultats sont généralement obtenus dans un délai de 15 minutes (**Tidrarine, 2019**).

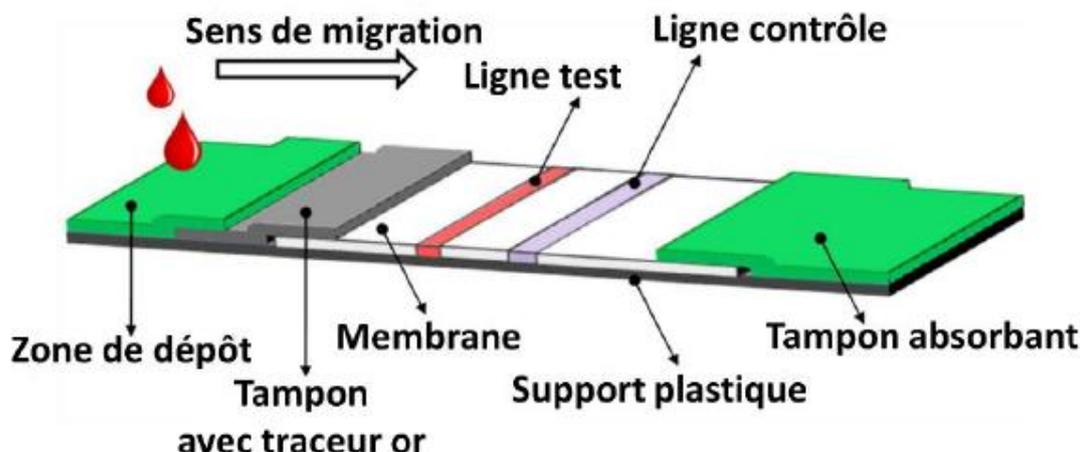


Figure 19 : Principe d'un test immunochromatographique (Tidrarine, 2019).

IV.2. Les méthodes génotypiques (Détection moléculaire des gènes de carbapénémase)

Seules les méthodes moléculaires (Reaction en chain par polymérase PCR et séquençage ou hybridation sur puces à ADN) permettent, à l'heure actuelle, de caractériser de façon précise les enzymes produites. Ces méthodes sont réalisées en routine dans certains laboratoires cliniques spécialisés ou non, pour pallier aux problèmes de la détection phénotypique des micro-organismes producteurs de carbapénémase. Des kits commerciaux existent et permettent la détection des gènes codant les carbapénèmases, y compris directement à partir des échantillons cliniques (Grall *et al.*, 2011).

A. Polymerase chain reaction (PCR) et séquençage

Elle constitue la méthode de référence utilisée pour confirmer la présence d'un gène de carbapénémase sur une souche. Dans sa version dite « multiplex » (utilisation concomitante de plusieurs amorces), elle permet de rechercher plusieurs de ces gènes sur un même gel (Massri, 2016).

a. Amplification génique

La PCR permet de confirmer la présence du gène d'une carbapénémase dans l'isolat et l'identification précise du type, à des fins épidémiologiques. Il existe des méthodes de PCR « maison » ou des méthodes commerciales incluant différentes PCR multiplex telles que :

– Xpert® Carba-R (Cepheid) : détectant KPC, NDM, VIM, IMP-1, OXA-48, OXA-

181 et OXA-232.

–Check direct CPE (Check-points) : détectant KPC, NDM, VIM et OXA-48.

b. Séquençage

Les méthodes de séquençage haut-débit de l'ADN permettent la détermination de la séquence d'acides nucléiques de millions de gènes. Actuellement ces méthodes permettent la détermination du génome entier en quelques heures à quelques jours, au lieu de plusieurs mois auparavant (**Tidrarine, 2019**).

B. Biopuces à ADN

La technique des biopuces à ADN développée récemment est la méthode de détection des gènes de carbapénémases la plus répandue dans les laboratoires spécialisés. Basée sur la propriété de l'ADN dénaturé à reformer spontanément sa double hélice lorsqu'il est mis en présence de son brin complémentaire, elle permet la détection simultanée, en 6h, de divers gènes de résistance, utilisés comme sondes fixées à un support. Les puces Check KPC ESBL et sa version améliorée Check-MDR CT103, commercialisées en France par Biocentrics détectent, en une seule réaction, les gènes *bla* des carbapénémases les plus répandues chez les entérobactéries, ainsi que certains gènes de BLSE. Des études ont montré que la puce Check-MDR CT103 présentait une sensibilité et une spécificité de 100% pour la détection des gènes *bla_{OXA-48}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM-1}* et *bla_{VIM}* alors que pour le gène *bla_{KPC}*, elles sont de 100% et 85% respectivement (**Riethmuller, 2013**).

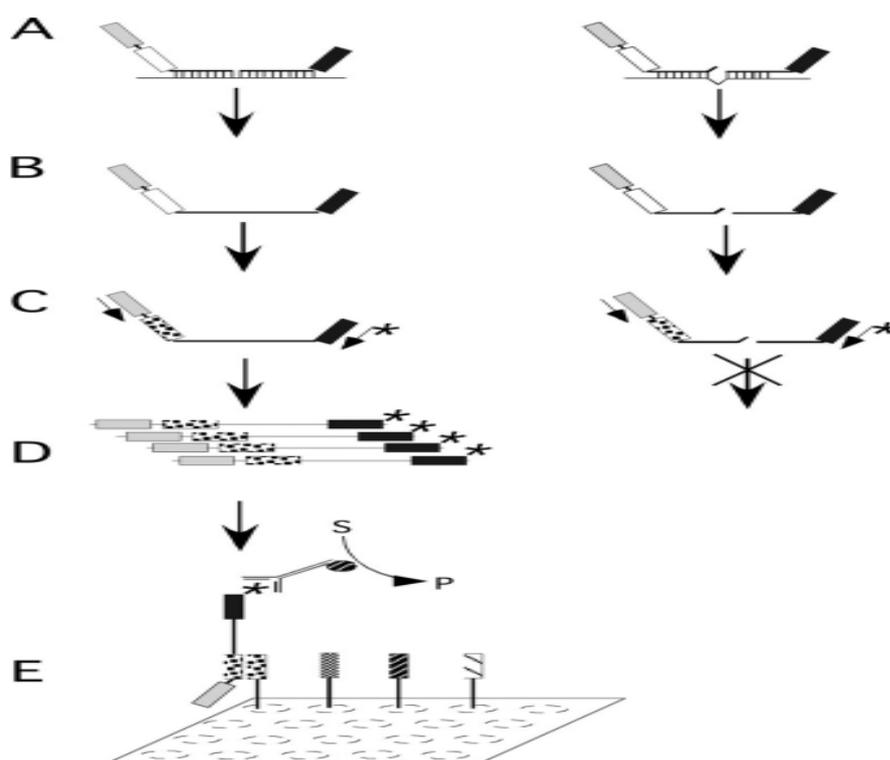


Figure 20 : Principe du réseau Check-Points ESBL/KPC. (A) Lorsqu'elle est correctement hybridée à une séquence cible, la coupure simple brin située entre deux bras de sonde adjacents est ligaturée. (B) Des discordances critiques dans la séquence cible entraîneront l'échec de la ligature, laissant les extrémités de la sonde écartées. (C) Les produits de ligature réussis sont amplifiés par PCR à l'aide d'une seule paire d'amplificateurs annelés aux séquences complémentaires incluses dans les sondes (boîtes grises et noires). (D) Les codes postaux uniques (zone hachée) attribués à chaque sonde seront spécifiquement capturés par des oligonucléotides complémentaires (codes cZIP, zone pointillée) repérés sur la puce à ADN. (E) La détection se produit par un marqueur de biotine incorporé à l'extrémité 5' de l'une des amorces PCR. Le système peut être multiplexé avec de nombreuses sondes différentes, chacune portant un code postal unique. Les réactions successives sont traitées dans un seul tube. S, substrat ; P, produit (Naas *et al.*, 2010).

Conclusion

Conclusion

La prévalence de la résistance aux carbapénèmes augmente dans le monde entier chez toutes les espèces de bacilles à Gram négatif cliniquement importantes. Chez les entérobactéries, la résistance est principalement due à des β -lactamases de type KPC, des métallo- β -lactamases et de l'OXA-48. De nombreuses carbapénèmases ont été décrites chez *P. aeruginosa*, y compris des KPC et des métallo- β -lactamases. Ces enzymes sont présentes dans des souches multirésistantes, nosocomiales et épidémiques. Chez *A. baumannii*, des enzymes de type KPC et des métallo- β -lactamases ont été identifiées, mais la résistance aux carbapénèmes dans cette bactérie est principalement due à des oxacillinases spécifiques. De nouvelles carbapénèmases sont constamment identifiées constamment dans le monde, témoignant d'échanges de gènes de résistance entre *Entérobactéries*, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Nordmann, 2010).

En ce qui concerne les perspectives, notre étude reste préliminaire et le sujet reste ouvert à de futures études. Il serait intéressant de compléter cette étude en :

- ✓ Rassemblant les facteurs de risque dans l'acquisition de souches résistantes aux carbapénèmases.
- ✓ Utilisant de la biologie moléculaire pour identifier les gènes codant pour les carbapénèmases et recherchant des liens de clonalité entre plusieurs souches résistantes aux carbapénèmes.

Références

Références

- **Abbas M., Cherkaoui A., Fankhauser C., Schrenzel J., & Harbarth S. (2012).**Carbapénémases : implications cliniques et épidémiologiques pour la Suisse. *Implications cliniques et épidémiologiques pour la Suisse*, 822-888.
- **Baba Ahmed-Kazi Tani Z., & Arlet, G. (2014).** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*,**62**(3), 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2014.01.005>
- **Babakhani S., & Oloomi M. (2018).** Transposons : The agents of antibiotic resistance in bacteria. *Journal of Basic Microbiology*, **58**(11), 905-917. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800204>
- **Baillie c. (2018).** Suivi d'une cohorte de patients colonisés a *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides entre 2008 et 2017. Faculté des Sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille. Spécialité pharmacie hospitaliere et des collectivites. Université de Lille 2. Thèse de doctorat.
- **Baranzelli A., Wallyn F., & Nseir S. (2013).**Infections bronchopulmonaires à *Stenotrophomonas maltophilia* et à *Acinetobacter baumannii*. *Revue de Pneumologie Clinique*, **69**(5), 250-259.
- **Boivin S., & Caux, C. (2016).**Les entérobactéries productrices de carbapénémases.*Prévention des infections*, **13**, 53-56.
- **Boutal H. (2017).** Innovation thérapeutique : Du fondamental à l'appliqué (ITFA) Spécialité de doctorat immunologie et biothérapies. Université Paris-Saclay préparée à l'Université Paris-Sud. Thèse de doctorat.
- **Camilli A. (2022).***Acinetobacter baumannii*, une bactérie multirésistante opportuniste : État des lieux et étude de l'expression de gènes impliqués dans la transformation bactérienne. Spécialité pharmacie. Université de Claude Bernard Lyon 1. Thèse de doctorat.
- **Carle S. (2010).** La résistance aux antibiotiques : Un enjeu de santé publique important ! **42**.
- **Cavallo J.-D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., & Garrabé E. (2004).**Bêtalactamines. *EMC - Maladies Infectieuses*,**1**(3), 129-202. <https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2004.03.003>

- **Cebbron C. (2021).** Bon usage des carbapénèmes en pédiatrie : Évaluation des pratiques professionnelles. Spécialité pédiatrie. Université de Grenoble Alpes. Thèse de doctorat.
- **Chassagne C. (2012).** Caractérisation phénotypique de souches d'entérobactéries produisant une oxacillinase-48 isolées lors d'une épidémie survenue au CHU de Nancy en 2009/2011. Spécialité de biologie médicale. Université de Lorraine. Thèse de doctorat.
- **Chemelle J.-A (2010).** Étude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des β - lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Université de Claude Bernard Lyon 1. Thèse de doctorat.
- **Choquet M. (2016).** Mise en place d'un algorithme décisionnel pour la détection des entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) au laboratoire de bactériologie du CHU Amiens-Picardie. Spécialité de biologie médicale. Université de Picardie Jules Verne. Thèse de doctorat.
- **Codjoe F., & Donkor E. (2017).** Carbapenem Resistance : A Review. *Medical Sciences*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.3390/medsci6010001>
- **Cuzon G., Naas T., & Nordmann P. (2010).** Carbapénémases de type KPC : Quel enjeu en microbiologie clinique ? *Pathologie Biologie*, 58(1), 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.07.026>
- **Deroche L. (2023).** Contribution à la compréhension des mécanismes de résistances aux nouvelles bêta-lactamines observés dans des souches cliniques de bacilles à Gram négatif : Apports de la biologie moléculaire et de l'analyse pharmacocinétique/pharmacodynamique. Faculté Médecine et Pharmacie. Université de Poitiers. Thèse de doctorat.
- **Docquier J.-D. (2003).** On functional and structural heterogeneity of VIM-type metallo-beta-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(2), 257-266. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg067>
- **Doit C. (2015).** Bactéries hautement résistantes émergentes en pédiatrie. *Réanimation*, 24(6), 749-754. <https://doi.org/10.1007/s13546-015-1108-9>
- **Figueiredo S. (2011).** *Acinetobacter spp.* Et réservoir de gènes de carbapénémases. microbiologie / thérapeutiques anti-infectieuses. Université Paris-SUD 11. Thèse de doctorat.

- **Gagnaire J., Verhoeven P., Denis C., Grattard F., Carricajo A., Pozzetto B., & Berthelot P. (2015).** Prise en charge des bactéries multirésistantes aux antibiotiques dans les établissements de santé. *feuillet de Biologie*.
- **Gregoire M. (2018).** Optimisation de l'utilisation des céphalosporines en curatif et préventif d'infections bactériennes à partir de données PK/PD, de la pharmacocinétique de population, de simulations et d'une analyse du microbiote intestinal. Spécialité de Pharmacologie. Université de Nantes. Thèse de doctorat.
- **Grall N., Andreumont A., & Armand-Lefèvre L. (2011).** Résistance aux carbapénèmes : Vers une nouvelle impasse ? *Journal des Anti-infectieux*, **13**(2), 87-102. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2011.03.005>
- **Holman A.M. (2016).** Étude épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémase à La Réunion de 2010 à 2015. Spécialité Médecine Générale. Université de Bordeaux. Thèse de doctorat.
- **Jeannot K., & Plésiat P. (2016).** Épidémiologie de la résistance aux β -lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal des Anti-infectieux*, **18**(2), 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2015.11.001>
- **Jousset A. (2018).** Analyse génomique et transcriptomique de bactéries productrices de carbapénémases. Spécialité de doctorat microbiologie. Université Paris-Saclay préparée à l'Université Paris-Sud. Thèse de doctorat.
- **Kassah-laouar A. (2020).** Les antibiotiques : De la définition principes à la totorésistance MECANISMES D'ACTION. *Revue Aurassienne du Laboratoire*.
- **Khiev B., & Veber B. (2010).** Patient BMR + : Risques de contamination et prévention en préhospitalier et aux urgences.
- **Kopotsa K., Osei Sekyere J., & Mbelle N. M. (2019).** Plasmid evolution in carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* : A review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1457**(1), 61-91. <https://doi.org/10.1111/nyas.14223>
- **Martak D. (2021).** Epidémiologie des bacilles à Gram négatif dans la communauté, l'environnement et la nourriture. Spécialité de environnements – Santé. Université de Bourgogne Franche-Comté. Thèse de doctorat.
- **Massri A. (2016).** Épidémiologie de la résistance aux carbapénèmes de *Pseudomonas*

aeruginosa dans 3 services de réanimation français : Études des mécanismes de résistance et évaluation des tests phénotypiques de dépistage des carbapénémases. Spécialité de sciences médicales. Université de Bordeaux. Thèse de doctorat.

- **Meletis G. (2016).** Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, **3**(1), 15-21. <https://doi.org/10.1177/2049936115621709>
- **Moguet C. (2023).** Développement de tests rapides pour la détection des bêta-lactamases. Spécialité de doctorat microbiologie. Université Paris-Saclay . Thèse de doctorat.
- **Muylaert A., MAINIL J.G. (2012) .** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » . *Ann. Méd. Vét.*, **156**, 109- 123.
- **Naas T., Cuzon G., Truong H., Bernabeu S., & Nordmann P. (2010).** Evaluation of a DNA Microarray, the Check-Points ESBL/KPC Array, for Rapid Detection of TEM, SHV, and CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamases and KPC Carbapenemases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **54**(8), 3086-3092. <https://doi.org/10.1128/AAC.01298-09>
- **Nicol M. (2017).** Recherche d'outils thérapeutiques innovants pour lutter contre la bactérie *Acinetobacter baumannii*.
- **Nordmann P. (2010).** Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *médecine/sciences*, **26**(11), 950-959. <https://doi.org/10.1051/medsci/20102611950>
- **Nordmann P., & Carrer A. (2010).** Les carbapénémases des entérobactéries. *Archives de Pédiatrie*, **17**, S154-S162. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(10\)70918-0](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(10)70918-0)
- **Nordmann P., & Poirel L. (2014).** Résistances aux antibiotiques émergentes et importantes chez les bactéries Gram négatif: Épidémiologie, aspects théoriques et détection. *Revue Médicale Suisse*, **10**(427), 902-907. <https://doi.org/10.53738/REVMED.2014.10.427.0902>
- **Nordmann P., Dortet L., & Poirel L. (2012).** Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: Here is the storm! *Trends in Molecular Medicine*, **18**(5), 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
- **Oueslati S. (2019).** Caractérisation moléculaire et biochimique des carbapénémases les

plus répandues chez les Entérobactéries associées à des infections sévères en vue de développer de nouveaux inhibiteurs. Spécialité de doctorat microbiologie. Université Paris-Saclay préparée à l'Université Paris-Sud. Thèse de doctorat.

- **Papp-Wallace K. M., Endimiani A., Taracila M. A., & Bonomo R. A. (2011).** Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **55**(11), 4943-4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
- **Pierrot S. (2015).** Portage de bactéries multirésistantes en structures d'accueil pour personnes âgées : Évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque. Spécialité de docteur en pharmacie. Université de Lorraine. Thèse de doctorat.
- **Poirel L., & Nordmann P. (2006).** Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : Évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*, **8**(2), 100-107. [https://doi.org/10.1016/S1294-5501\(06\)70805-6](https://doi.org/10.1016/S1294-5501(06)70805-6)
- **Riethmuller J. (2013).** La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes. Etude prospective aux Hôpitaux Civils de Colmar du dépistage avec un milieu sélectif et intérêt de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le criblage. Spécialité de pharmacie de strasbourg. Université de Strasbourg. Thèse de doctorat.
- **Ricard C. (2021).** Identification des facteurs de mauvais pronostic des infections par entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu : Étude rétrospective dans un centre hospitalier régional. Spécialité de pharmacie option pharmacie hospitalière. Université de Marseille. Thèse de doctorat.
- **Ruppé É., Woerther P.-L., & Barbier F. (2015).** Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of Intensive Care*, **5**(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13613-015-0061-0>
- **Sabor, H. (2017).** Phénotypes de résistance des entérobactéries isolées au CHNU de Fann de Dakar de 2014 à 2016. Spécialité de médecine de pharmacie et d'odontologie. Université de Chikh Anta Diop de Dakar. Thèse de doctorat.
- **Sangaré A. (2023).** Analyse de la prescription des antibiotiques à l'hôpital mère-enfant Naomi Harris de Bongourou Kayes. Spécialité de pharmacie. Université de Bamako. Thèse de doctorat.
- **Santucci J. (2022).** Évaluation du bon usage des carbapénèmes par la commission des

anti-infectieux (CARBACAI) dans un centre hospitalier universitaire. Spécialité de pharmacie hospitalière. Université de Caen Normandie. Thèse de doctorat.

- **Sardi F. S. (2021).** Résistance au bêta-lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa* : Épidémiologie et mécanismes moléculaires. Spécialité de pharmacie. Université d'Aix-Marseille. Thèse de doctorat.
- **Sawa T., Kooguchi K., & Moriyama K. (2020).** Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of Intensive Care*, **8**(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>
- **Tidrarine S. (2019).** Epidémiologie des entérobactéries multirésistantes productrices de carbapénémase à l'HIT. Spécialité de médecine. Université de Marrakech. Thèse de doctorat.
- **Touati M (2013).** Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif nonfermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Spécialité de microbiologie appliquée. Université de Badji Mokhtar-Annaba. Thèse de doctorat.
- **Van Bambeke F., & Tulkens P. (2008).** Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse. Syllabus national belge de pharmacologie. 1, Bruxelles : UCL ; 2007-2008. p. 1-18.
- **Van Hollebeke M. (2015).** Évaluation des pratiques professionnelles : Bon usage des carbapénèmes au CHU de Grenoble. Spécialité de pharmacie. Université de Joseph Fourier. Thèse de doctorat.
- **Wolff M., Joly-Guillou M.-L., & Pajot O. (2009).** Les carbapénèmes. *Réanimation*, **18**, S199-S208. [https://doi.org/10.1016/S1624-0693\(09\)75318-6](https://doi.org/10.1016/S1624-0693(09)75318-6)
- **Zhou X., & Li Y. (2021).** Atlas of Oral Microbiology : From Healthy Microflora to Disease. Springer Nature.

Résumé

La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir que un jour il serait possible de maîtriser toutes les maladies infectieuses, mais l'apparition de la résistance aux antibiotiques a mis fin à ces espoirs. L'émergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif représente un véritable défi car elle conduit à des impasses thérapeutiques. Cette résistance peut être due à des mécanismes chromosomiques, à l'association de mécanismes de résistances ou à la production d'enzymes hydrolysant les carbapénèmes. Ce dernier mécanisme est le plus inquiétant car les gènes codant pour ces enzymes sont généralement situés sur des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides, des transposons, ou des intégrons, ce qui permet une dissémination rapide. Les carbapénémases constituent un groupe hétérogène d'enzymes ayant en commun la capacité d'hydrolyser au moins l'un des carbapénèmes. Ces enzymes se retrouvent dans une grande variété d'espèces bactériennes, y compris les *Entérobactéries*, *P.aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*). Les carbapénémases ont une distribution géographique mondiale, mais certains pays semblent être plus spécifiquement touchés.

Mots clés : Carbapénèmes, Résistance, Bactéries à Gram négatif, carbapénémases.

Abstract

The discovery of antibiotics raised hopes that one day it would be possible to control all infectious diseases, but the emergence of antibiotic resistance put an end to these hopes. The emergence of resistance to carbapenems among Gram-negative bacilli represents a real challenge because it leads to therapeutic dead ends. This resistance may be due to chromosomal mechanisms, the association of resistance mechanisms or the production of enzymes hydrolyzing carbapenems. This last mechanism is the most worrying because the genes encoding these enzymes are generally located on mobile genetic elements such as plasmids, transposons, or integrons, which allows rapid dissemination. Carbapenemases constitute a heterogeneous group of enzymes having in common the ability to hydrolyze at least one of the carbapenems. These enzymes are found in a wide variety of bacterial species, including Enterobacteriaceae, *P.aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*). Carbapenemases have a worldwide geographic distribution, but certain countries appear to be more specifically affected.

Keywords: Carbapenems, Resistance, Gram-negative bacteria, carbapenemases.

ملخص

اثر اكتشاف المضادات الحيوية الأمل في امكانية السيطرة على جميع الأمراض المعدية يوماً ما، لكن ظهور مقاومة المضادات الحيوية وضع حداً لهذه الأمل.

إن ظهور مقاومة للكاربابينيمات بين العصيات سالبة الجرام يشكل تحدياً حقيقياً لأنه يؤدي الى طريق علاجي مسدود. قد تكون هذه المقاومة بسبب آليات الكروموسومات، أو ارتباط آليات المقاومة أو إنتاج إنزيمات الكاربابينيمات المتحللة مائياً. هذه الآلية الأخيرة هي الأكثر إثارة للقلق بسبب حقيقة أن الجينات المشفرة لهذه الإنزيمات عادة ما تكون موجودة على العناصر الجينية المتنقلة (البلازميدات، الترانسبوزونات، الإنتجرونات) مما يسمح بالانتشار السريع. تم العثور على هذه الإنزيمات في مجموعة واسعة من الأنواع البكتيرية (*Entérobacteria, P. aeruginosa et Acintobacter baumanii*).

تتوزع الكاربابينيمات جغرافياً في جميع انحاء العالم، ولكن يبدو ان بعض البلدان تتأثر بشكل أكثر تحديداً.

الكلمات المفتاحية: الكاربابينيمات، المقاومة، البكتيريا سالبة الجرام، الكاربابينيمات.