



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre
et de l'Univers

Département de biologie

*Laboratoire : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et
activité biologique*

MÉMOIRE

Présenté par

FEDAUCHE Manel

FELLAH Chaimae

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

Résistance à la colistine chez les bacilles à Gram négatif

Soutenu le 2 Juillet 2022, devant le jury composé de :

Présidente Boucherit-Otmani Zahia

Pr

Université de Tlemcen

Examineur Seghir Abdelfettah

MCA

Université de Tlemcen

Encadrante Kazi Tani-Baba Ahmed Zahira Zakia

MCA

Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ

أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ ﴿٣٢﴾

سُورَةُ الْبَقَرَةِ

Remerciements

Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadreur, M^{me} Baba Ahmed-Kazi Tani Zahira Zakia, Maître de conférences classe A au département de Biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour son encadrement, sa disponibilité, sa gentillesse et son aide tout le long de la réalisation de ce modeste travail. Nous saisissons cette occasion pour lui exprimer notre profonde gratitude tout en lui témoignant notre respect pour ses qualités pédagogiques et scientifiques.

Nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements à Madame Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté de présider ce jury et d'apporter son regard critique à ce travail. Ainsi Par ce message, nous vous adressons notre profond respect.

Notre profonde reconnaissance s'adresse également à Monsieur Seghir Abdelfettah, Maître de conférences classe A, au département de Biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes chers parents, *BEN ALI et HAFIDA,*

Vous avez toujours été pour moi un exemple de parents respectueux, honnête, je tiens à honorer les parents que vous êtes. Grâce à vous j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais vous remercier pour votre amour, votre générosité, votre compréhension... Votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour vous.

A Toutes mes sœurs HANANE, MANSORIA, AMEL, NAWEL, FATIMA et WISSAM

Mes frères MILOUD et MOHAMED

Mon fiancé MERWAN

Ma petite famille

Pour leurs soutiens, affection, compréhension et patience.

À mes amies, *Chaimae et Aicha*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter

À toute la promotion de Master biochimie 2021/2022

FEDAUCHE Manel

Dédicace

J'ai l'immense honneur de dédier ce travail à tous ceux qui me sont chers :

À ma très chère mère, celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation, merci Maman pour ta tendresse, tes prières et ta bénédiction.

À mon cher père, celui qui a changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions et qui a toujours été pour moi l'exemple de l'honnêteté, et de persévérance.

À mes chères sœurs Hanae, Meriem, Baya, pour l'amour qu'elles me donnent.

Je vous aime et que Dieu vous protège.

À mon beau-frère, Oussama, je sais enfin ce que sais que le bonheur d'avoir un frère sur lequel on peut compter, moi qui n'en ai jamais eu.

À Manel et Ibtissem vous êtes pour moi des sœurs et des amies, merci à vous pour les souvenirs et les moments que nous avons passé ensemble.

À Monsieur B. Otmane qui m'a soutenu et encouragé tout au long des moments difficiles de cette année, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de réussite et de bonheur.

À toute la promotion de Master biochimie 2021/2022

Fellah Chaimae

Résumé

La colistine est un antibiotique de la famille des polymyxines, il est considéré comme une option de traitement de dernier recours pour les infections graves causées par des bactéries Gram négatives multi-résistantes. La résistance à la colistine peut être soit chromosomique, via des mutations génétiques qui régulent l'addition de groupes cationiques ou plasmidique par des gènes *mcr* récemment décrits (*mcr-1* à *mcr-10*). Ces mécanismes de résistance ont été trouvés dans des bactéries isolées d'animaux, d'aliments, d'humains et de plantes partout dans le monde de même qu'en Algérie. Des mesures strictes doivent être prises afin de limiter la diffusion des souches multi-résistantes.

Mots clés : colistine, bactéries Gram négatives, gènes de résistance.

Abstract

This document serves as a reference for anyone seeking information on resistance to colistin, an antibiotic that belong to the polymyxin family and is considered a last-resort treatment option for serious infection caused by multidrug-resistance gram-negative bacteria, namely *Enterobacteriaceae* which are increasingly resistant to the effect of this antibiotic. Resistance to colistin can be either chromosomal, via genetic mutation that regulate the groups, or plasmid, constituting the recently described *mcr* genes, *mcr-1* to *mcr-10*. These resistance mechanisms have been found in bacteria isolated from animals, food, humans and plants all over the world and Algeria is also affected by resistance of gram-negative bacteria to colistin.

Keywords: colistin, Gram negative bacteria, resistance genes.

ملخص

هذه الوثيقة بمثابة مرجع لأي شخص يبحث عن معلومات حول مقاومة الكولستين، هذا المضاد الحيوي ينتمي إلى عائلة البوليبيكسين ، ويعتبر خيار العلاج الأخير للعدوى الخطيرة التي تسببها البكتيريا سالبة متعددة الجرام. المقاومة لتأثيرات هذا المضاد الحيوي. يمكن أن تكون مقاومة الكوليسيتين إما صغية، عبر الطفرات الجينية التي تنظم إضافة المجموعات الموجبة *pmrA* ، *pmrB* ، *phoP* ، *phoQ* و *mgrB* ، أو البلازميد ، التي تشكل جينات *mcr* الموصوفة حديثاً *mcr-1* إلى *mcr-10*. تم العثور على آليات المقاومة هذه في البكتيريا المعزولة من الحيوانات والغذاء والبشر والنباتات في جميع أنحاء العالم، كما أن الجزائر، مثل البلدان الأخرى، تتأثر أيضاً بمقاومة البكتيريا سالبة الجرام للكوليسيتين.

الكلمات المفتاحية: كوليسيتين ، بكتيريا سالبة الجرام ، مقاومة ، جينات

Table des matières

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre 1 : les bactéries à gram négatif.....	3
1. Bactérie à gram négatif d'intérêt médical	4
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
2.1. Pouvoir pathogène	4
2.2. Facteurs de virulence.....	4
2.3. Formation de biofilm	5
3. <i>Acinetobacter baumannii</i>	6
3.1. Pouvoir pathogène	6
3.2. Facteurs de virulence.....	7
3.3. Formation de biofilm	7
4. <i>Entérobactériaceae</i>	8
4.1. Pouvoir pathogène	8
4.2. Facteurs de virulence.....	8
4.3. Formation de biofilm	9
Chapitre 2 : la colistine	10
1. La colistine	11
1.1. Origine.....	11
1.2. Structure	11
1.3. Mécanisme d'action	12
1.4. Spectre d'action.....	13
1.5. Utilisation thérapeutique	13

1.6. Utilisation en médecine humaine.....	16
Chapitre 3 : la résistance à la colistine.....	17
1. La résistance naturelle	18
2. La résistance acquise.....	18
2.1. La résistance chromosomique.....	18
2.2. La résistance plasmidique.....	20
3. Epidémiologie de la résistance à la colistine	22
3.1. Dans le monde	22
3.2. En Algérie.....	22
4. Méthodes de détection de la sensibilité à la colistine	23
4.1. Antibiogramme	23
4.2. Méthode de routine pour les tests de sensibilité.....	24
4.3. Technique de détection quantitative	25

Conclusion

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1: Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> par microscope électronique à balayage (MEB)	6
Figure 2: Microscopie électronique à balayage montrant l'adhésion d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur les surfaces biotiques.....	7
Figure 3: Observation microscopique d'une souche d'entérobactérie par microscope électronique à balayage (MEB)	9
Figure 4: structure chimique de la polymyxine B et la colistine.....	12
Figure 5: : Représentation de la structure chimique de sulfate de colistine	14
Figure 6: Représentation de la structure chimique de la colistiméthate de sodium CMS	14
Figure 7: Aperçu des voies pharmacocinétiques pour CMS, la colistine et pour la polymyxine B	15
Figure 8 : . Représentation schématique de la régulation des gènes impliqués dans la résistance à la polymyxine dans les isolats cliniques d' <i>Escherichia coli</i> (A) et <i>Klebsiella pneumoniae</i> (B).....	19

Liste des abréviations

BGN : bactérie à gram négatif

MDR : bactérie multi-résistant

LPS : lipopolysaccharide

EPS : exopolysaccharidique

CV : cristal violet

CMS : colistiméthate de sodium

CMI : concentration minimale inhibitrice

PEtN : phosphoethanolamine

BMD : microdilution en bouillon

Introduction

La résistance aux antibiotiques constitue l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. L'utilisation massive et souvent inappropriée des céphalosporines de troisième génération et des carbapénèmes, dans le traitement des infections à bactéries Gram négatives, a été rapidement suivie par l'émergence de souches multi-résistantes et a compromis en maints cas l'utilisation de ces molécules de choix dans le traitement de ces infections **(Nabti, 2020)**.

Face à ces résistances, la colistine est redevenue un antibiotique prescrit pour traiter les infections humaines graves associées à des bactéries résistantes à toutes les autres options thérapeutiques. La colistine, appartient à la famille des polymyxines, fait partie des molécules de dernier recours susceptible de jouer un rôle dans le traitement des patients infectés par des bactéries Gram négative multi-résistantes. Son utilisation est en augmentation aussi bien en médecine humaine qu'en agriculture et en élevage. Cependant, des formes de résistance à cet antibiotique ont commencé à apparaître ces dernières années. En 2015, Liu et ses collaborateurs, ont décrit, pour la première fois, un gène mobile codant pour la résistance à la colistine « mcr-1 » chez des souches d'*Escherichia coli* **(Liu et coll., 2016)**. Aujourd'hui, plusieurs autres gènes mobiles conférant une résistance à la colistine ont été rapportés, dans différents pays du monde, tant chez l'homme que chez l'animal.

En Algérie, la première étude évoquant la résistance à la colistine a été publiée en 2015. Il s'agissait d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* isolée chez des patients hospitalisés au centre hospitalo-universitaire de Beni-Messous à Alger **(yousfi et coll., 2019)**. C'était le début de plusieurs découvertes sur la résistance bactérienne à colistine en Algérie.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes proposés de passer en revue dans un premier temps les principales bactéries Gram négatives d'intérêt médical, le mode d'action de la colistine ainsi que les mécanismes de résistance et dans un deuxième temps faire le point sur l'épidémiologie de la résistance à la colistine dans le monde et en Algérie et des méthodes permettant l'étude de cette résistance émergente.

Chapitre 1

Les bactéries à Gram négatif

1. Bactéries à Gram négatif d'intérêt médical

Les bactéries à Gram négatif sont des micro-organismes en forme de bâtonnet qui ont la capacité de s'adapter aux changements de leur environnement en développant des mécanismes pour se protéger (**Bonnedahl et coll., 2008**). Ces bactéries sont fréquemment rencontrées en clinique comme agent responsable de diverses infections telles que la pneumonie, la péritonite, la méningite, les infections des voies urinaires ainsi que les infections des plaies (**Tacconelli et coll., 2014**). Les espèces les plus fréquemment isolées sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (**Ben jema et coll., 2004**).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, qui appartient à la famille des *Pseudomonaceae* (**Balasurbamanian et coll., 2013**). Les Bacilles de ce genre sont droits et fins, non capsulés, de taille variant entre 1 à 3 µm de long et 0,5 à 1 micro mètre de large, mobiles par une ciliature polaire. La culture est facile sur le milieu de culture avec ou sans production de pigment (**Avril et coll., 2000**). *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie lactose négative, c'est-à-dire dépourvue d'enzymes dégradants le lactose, sécrète un certain nombre de pigments : la pyocyanine (bleu-vert), la fluoresciène (jaune-vert fluorescent), et la pyorubine (brun-rouge).

2.1. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est l'exemple type des bactéries pathogènes opportunistes. Cette bactérie saprophyte est particulièrement responsable de diverses infections nosocomiales, tels que les infections pulmonaires, oculaires, méningées, cutanées et septicémies (**Eyquem et coll., 2000**).

2.2. Facteurs de virulence

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, le système de communication bactérienne appelé Quorum-sensing QS est double (las. rhl) et régule clairement l'expression de gènes de virulence (**Ruimy et Endremont, 2004**). Ce système active la transcription de plusieurs facteurs de virulence qui lui permettent de survivre dans différents hôtes et environnements (**Pier, 2002**).

➤ Facteurs impliqués dans l'adhérence et la motilité

L'adhérence des bactéries aux surfaces biotiques telles que les cellules eucaryotes cibles ou aux surfaces tissulaires est un phénomène particulier qui nécessite la

participation de deux facteurs, les récepteurs eucaryotes et les adhésines bactériennes.

On trouve le flagelle qui assure la mobilité et joue un rôle indirect dans l'adhésion cellulaire (**Adamo et coll., 2004**). Des Pilis de type IV qui sont impliqués dans un mécanisme de déplacement particulier et indépendant du flagelle. Un autre facteur d'attachement, le Fimbriae, est essentiel pour l'adhérence aux surfaces abiotiques (**Vallet et coll., 2001**).

➤ Facteurs impliqués dans la colonisation de l'hôte

Les toxines et les protéases causent des lésions tissulaires et favorisent la croissance et la dissémination bactérienne dans les tissus de l'hôte, parmi les toxines de *Pseudomonas aeruginosa*, on trouve : exotoxine A, élastase, phospholipase C, rhamnolipides et exozymes (**Krall et coll., 2002**).

2.3. Formation de biofilm

Pseudomonas aeruginosa est parfois associée à des échecs de traitement, du fait d'une résistance (naturelle et/ou acquise) à de nombreux antibiotiques, et d'un mode de vie communautaire associé à la formation de biofilms (Figure 1) (**Dennis et coll., 2000**) (**Veltman et coll., 2015**). Pour cela ce pathogène est utilisé comme organisme modèle pour étudier les biofilms des bactéries à Gram négatifs (**Fangous et coll., 2018**). Chez *Pseudomonas aeruginosa*, les exopolysaccharides sont avec l'ADN des composants essentiels de la matrice extracellulaire du biofilm qui englobent la population bactérienne (**kowalska, 2011**).



Figure 1. Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* par microscope électronique à balayage (MEB) (**Dennis et coll., 2000**)

3. *Acinetobacter baumannii*

Les *Acinetobacter* sont des bactéries de l'environnement, capables d'utiliser une grande variété de substrats comme source de carbone, ce qui leur confère un habitat très large. Ce sont des bacilles courts immobiles, présentant fréquemment des variations morphologiques (coccoïde ou bacillaire) (**Davoud, 2015**). On décrit 12 espèces appartenant au genre *Acinetobacter*. Une seule espèce, *Acinetobacter baumannii*, est régulièrement responsable d'infections humaines (**Flandrois et coll., 2000**). La majorité des infections attribuées à cette bactérie opportuniste sont nosocomiales (**Bouchloukh et coll., 2019**).

3.1. Pouvoir pathogène

Les *Acinetobacter* sont fréquemment isolées de la peau ou du rhinopharynx des malades hospitalisées mais aussi de sujets sains. Elles sont, malgré leur faible virulence, responsables dans un certain nombre de cas de méningites graves, de septicémies, de pleurésies, de conjonctivites, de sinusites, de suppurations cutanées, d'infections urinaires, d'ulcérations intestinales et de péricardites. Les infections

causées par *Acinetobacter baumannii* sont souvent dues à des souches multi-résistantes aux antibiotiques (Davoud, 2015).

3.2. Facteurs de virulence

L'un des facteurs de virulence les plus caractérisés chez *Acinetobacter baumannii* est la protéine OmpA de la membrane externe, qui est une protéine de surface de masse moléculaire de 38KDa, elle est non seulement impliquée dans l'adhérence et dans l'invasion des cellules épithéliales, mais aussi dans l'induction de l'apoptose durant les étapes initiales de l'infection par *Acinetobacter baumannii* (Choi et coll., 2008).

3.3. Formation de biofilm

Chez tous les micro-organismes, l'adhésion et la formation de biofilm sont des processus bien orchestrés qui répondent à des indices cellulaires et environnementaux (Stanley et Lazazzera, 2004). Cela s'applique également à *Acinetobacter baumannii*. Ce microorganisme forme des biofilms sur des surfaces abiotiques comme le polystyrène ainsi que sur des surfaces biotiques comme les cellules épithéliales et les filaments fongiques. L'assemblage des pilis et la production de la protéine d'adhésion à la surface jouent un rôle dans l'initiation et la maturation du biofilm après l'attachement initial aux surfaces abiotiques (Figure 2) (Choi et coll., 2008).



Figure 2 : Microscopie électronique à balayage montrant l'adhésion d'*Acinetobacter baumannii* sur les surfaces biotiques (Choi et coll., 2008).

4. *Enterobacteriaceae*

Les *enterobacteriaceae* sont une grande famille de bacilles à gram négatif. Ce sont des habitants normaux de tractus gastro-intestinal de l'homme et d'autres animaux (**Donnenberg, 2010**). Cette famille est composée par des espèces soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*), soit saprophytes (*Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*) (**Joly et Reynaud, 2004**). Les *enterobacteriaceae* ont des tailles variants de 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large, mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais il y a certains germes immobiles comme *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia pestis* (**Drame, 2001**). Les bactéries de cette famille sont dépourvus d'oxydase et ont la possibilité de fermenter le glucose.

4.1. Pouvoir pathogène

Les entérobactéries sont soit : « Des agents pathogènes opportunistes » qui peuvent provenir de la flore digestive commensale normalement résidente. Elles sont responsables d'infections telles que les infections urinaires, la surinfection respiratoire, les septicémies, les méningites et les infections nosocomiales. Soit des « agents pathogènes spécifiques » dont la présence dans le milieu extérieur n'est qu'un phénomène transitoire dû à un manque d'hygiène (**Somipev, 2017**).

4.2. Facteurs de virulence

Les entérobactéries et leurs abondances dans l'intestin, leur mobilité, leur capacité de multiplication et d'acquisition de résistance expliquent leur implication en pathologie infectieuse humaine (**Osman, 2018**). Cette implication peut être provoquée par de nombreux facteurs de virulence tels :

- Les Fimbriae et les pilis qui permettent la colonisation de la surface
- Les sidérophores pour capter le fer et l'utiliser pour leurs croissances
- Des toxines ont également un rôle important à savoir le facteur cytotoxique nécrosant (CNF) qui détruit les cellules de l'épithélium urinaire.
- D'autres toxines associées à l'hémolysine, qui lisent les érythrocytes, perturbent la cascade de signalisation cellulaire et induisent l'apoptose de la cellule hôte, en libérant des nutriments par un phénomène inflammatoire.
- L'antigène O et l'antigène capsulaire K qui ont été identifiés à la surface de *Klebsiella pneumoniae* (**Barrier, 2014**).

4.3. Formation de biofilm

La formation de biofilm peut être considérée comme un autre déterminant pathogène, qui permet aux souches de persister plus longtemps dans l'environnement (**José Ramos, 2019**). Lors de la formation de microcolonies, l'adhésion entre cellules est médiée par des adhésines nommées autotransporteurs. Le membre le plus étudié de cette classe est la protéine de membrane externe Antigène 43 (Ag43). Elle est présente chez *Escherichia coli* (**Chauhan et coll., 2013**). Les biofilms de cette bactérie contiennent trois exopolysaccharides majeurs, le poly- β -1,6-N-acetyl-D-glucosamine (PGA), la cellulose et l'acide colanique (**Sharma et coll., 2016**).



Figure 3. Observation microscopique d'une souche d'entérobactérie par microscope électronique à balayage (MEB) (**Avril et coll., 2000**).

Chapitre 2
La colistine

1. Colistine

La colistine est un ancien antibiotique découvert en 1940. Elle a été utilisée pour la première fois en 1950 sous forme de formulation intraveineuse. En 1959, l'administration des aliments et des médicaments américains FDA a approuvé la colistine comme un agent antimicrobien pour le traitement de divers types d'infections contre les bactéries Gram négatives **(El-Sayed Ahmed et coll., 2020)**. Cependant, l'utilisation clinique de la colistine a été largement abandonnée dans les années 1970, principalement à cause des effets néphrotoxiques et neurotoxiques humains **(Grégoire et coll., 2017)**.

1.1. Origine

La colistine appartient à la famille des polymyxines qui sont produits naturellement par différentes espèces *Paenibacillus polymyxa*. Cette famille est constituée de Cinq classes chimiques A, B, C, D et E, tandis que seuls deux composés sont utilisés en thérapeutique : La polymyxine B et la colistine qui s'appelle aussi la polymyxine E **(Dortet et coll., 2016)**.

1.2. Structure

La colistine est produite à partir d'un mélange complexe d'une trentaine de molécules dont la plupart sont la Colistine A et la Colistine B. Les proportions respectives de ces deux ingrédients peuvent varier d'un lot à l'autre **(He et coll., 2013)**. Comme toutes les polymyxines, la colistine est composée d'un décapeptide cyclique hydrophile lié à des acides gras lipophiles **(Figure 4)**. La colistine B est différente de la colistine A suite à l'absence de groupement carboné (CH₂) à l'extrémité de cet acide gras. La toxicité intrinsèque de la colistine peut s'expliquer par les propriétés hydrophobes du segment acide gras N-terminal, qui explique également de façon significative son activité antimicrobienne **(Li et coll., 2014)**. De plus, la colistine et la polymyxine B ne diffèrent que par un seul acide aminé dans le noyau peptidique, avec une phénylalanine dans la polymyxine B et une leucine dans la colistine **(Dortet et coll., 2016)**.

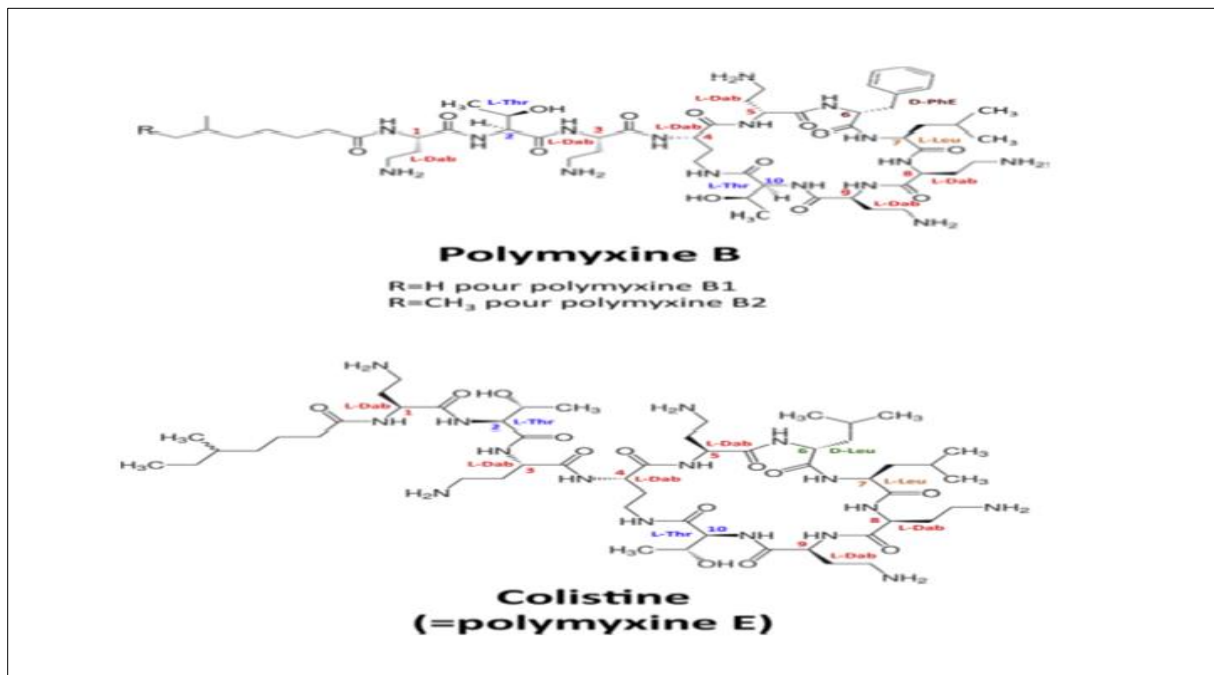


Figure 4. Structure chimique de la polymyxine B et de la colistine (**Dortet et coll., 2016**).

1.3. Mécanisme d'action

La plupart des études sur le mécanisme d'action des polymyxines ont été développées avec la polymyxine B, mais les similitudes entre les structures chimiques de la polymyxine B et de la colistine suggèrent que leur mécanisme d'action sont identiques (**Grégoire et coll., 2017**). Toutefois, le mécanisme d'action des polymyxines n'est pas entièrement compris et la plupart des études évoquent trois mécanismes qui aboutissent tous à la mort bactérienne (**Dortet et coll., 2016**).

1.3.1. Lyse des membranes bactériennes

On parle d'interaction électrostatique entre résidus d'acides diamino-butyrique Dab, groupe polymyxine chargée positivement et les groupes phosphates de la membrane lipidique A du lipopolysaccharides LPS chargée négativement (**Poirel et coll., 2017**). Plus précisément, la colistine déplace les ions Ca⁺⁺ et Mg⁺⁺ présents au niveau des ions phosphate chargés négativement et situés en particulier sur le lipide A (**Biswas et coll., 2012**). Elle perturbe ainsi l'équilibre hydro-électrolytique de la membrane, créant des pores à sa surface et entraînant une fuite du contenu intracellulaire.

1.3.2. Contact vésicule-vésicule

La spécificité structurale de l'échange direct vésicule-vésicule de phospholipides par des contacts moléculaires stables formés par la colistine est caractérisée par les méthodes cinétiques et Spectroscopiques **(Cajal et coll., 2010)**. La structure de la membrane externe se compose d'une couche interne uniquement de phospholipides et d'une couche externe contenant essentiellement les LPS, donnant aux polymyxines une chance de se lier aux phospholipides anioniques composant à la fois le feuillet interne de la membrane externe et le feuillet externe de la membrane interne **(Dortet et coll., 2016)**. Des contacts moléculaires inter-membranaires entre les vésicules anioniques sont formés d'un petit nombre de molécules colistine. Ce contact de lipides entre les deux membranes externe et interne induit une perte de spécificité dans la composition des membranes. Ceci aboutirait à un déséquilibre osmotique responsable de la lyse de la bactérie **(Clausell et coll., 2010)**.

1.3.3. Formation des radicaux libres

Dans certains cas, les polymyxines peuvent induire un stress oxydatif, entraînant la formation d'espèces réactives de l'oxygène ROS telles que des ions super-oxydes (O_2^-), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des radicaux hydroxyles (OH). Par conséquent, la concentration des radicaux hydroxyles atteint des niveaux qui ne peuvent pas être contrôlés, et les conséquences qui s'ensuivent sont la mort de la cellule (les dommages oxydatifs ultérieurs à l'ADN, aux lipides et aux protéines) **(Imlay, 2014)**.

1.4. Spectre d'action

La colistine a un spectre étroit, dirigée contre une majorité de bactéries à Gram négatif. *In vitro*, la colistine a un effet bactéricide très rapide et se comporte comme un antibiotique à concentration-dépendante avec les souches de *Pseudomonas aeruginosa* **(Li et coll., 2014)** ; **(Peterson et coll., 2014)**.

1.5. Utilisation thérapeutique

1.5.1. Formulation

La colistine est considérée comme la polymixine la plus utilisée en pratique clinique **(ortxine et coll., 2015)**. Il existe deux forme de colistine disponible dans le commerce, à savoir le sulfate de colistine **(figure 5)** pour un usage topique, et le méthanesulfonate de colistine de sodium CMS **(figure 6)** connu aussi sous le terme colistiméthate de

sodium est moins puissant et moins toxique que le sulfate de colistine. Il est produit par la réaction de colistine avec du formaldéhyde et du bisulfate du sodium pour l'inhalation et l'utilisation parentérale (**Zabidi et coll., 2020**).

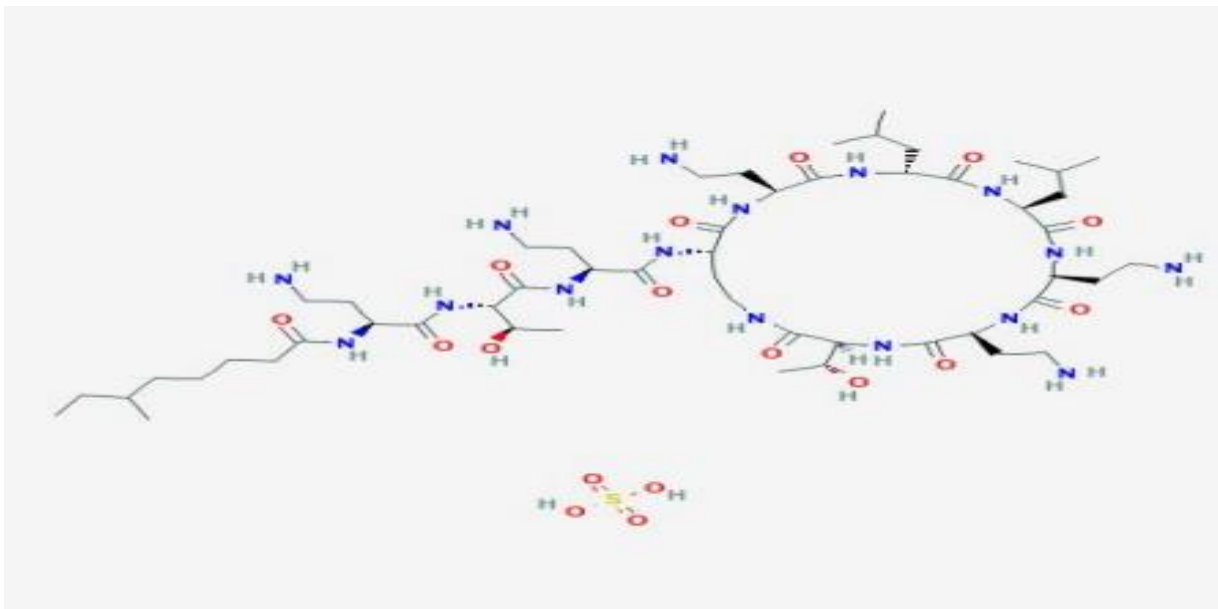


Figure 5 : Représentation de la structure chimique de sulfate de colistine (**Zabidi et coll., 2020**).

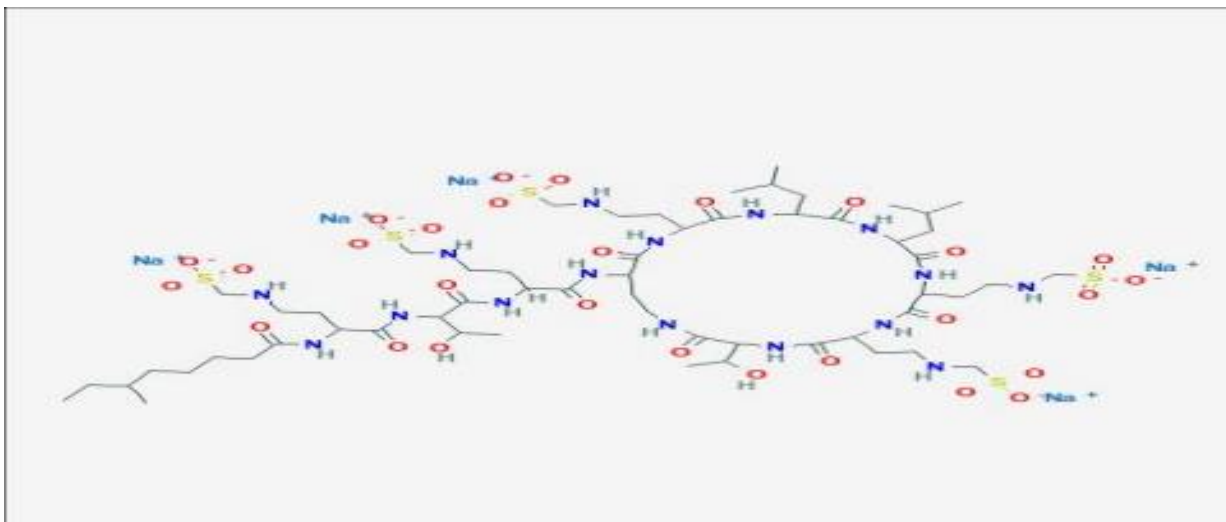


Figure 6 : Représentation de la structure chimique de la colistiméthate de sodium CMS (**Zabidi et coll., 2020**).

1.5.2. Pharmacocinétique-pharmacodynamique

La pharmacocinétique PK de la colistine a été obtenue, il y a au moins deux décennies lorsque les tests microbiologiques non spécifiques ont été utilisés pour mesurer les concentrations de la colistine dans les fluides biologiques (**Bialvaei et Samadikafil, 2015**). La colistine chargée positivement présente un profil pharmacocinétique PK nettement différent de celui du dérivé sulfométhylé (**Trans et coll., 2016**). La CMS est éliminée principalement par les reins, alors que, la colistine est principalement éliminée par une voie autre que l'excrétion rénale, car elle subit une réabsorption tubulaire, mais les taux élevés de la colistine urinaires s'expliquent par la conversion du CMS en colistine au niveau du tractus urinaire (**Mass, 2018**). Dans ce cas la colistine doit être adaptée à la fonction rénale du patient (**Figure7**). *In vitro*, lorsqu'elles sont exposées à la colistine, les bactéries développent rapidement des mécanismes de résistance (**Osei Sekyere et coll., 2016**). Dans ces cas, des modèles pharmacocinétiques/pharmacodynamiques peuvent être utilisés pour quantifier la perte d'efficacité de la colistine et pour déterminer les schémas posologiques optimaux également nécessaire. L'utilisation d'une dose de charge pourrait réduire l'émergence de la résistance.

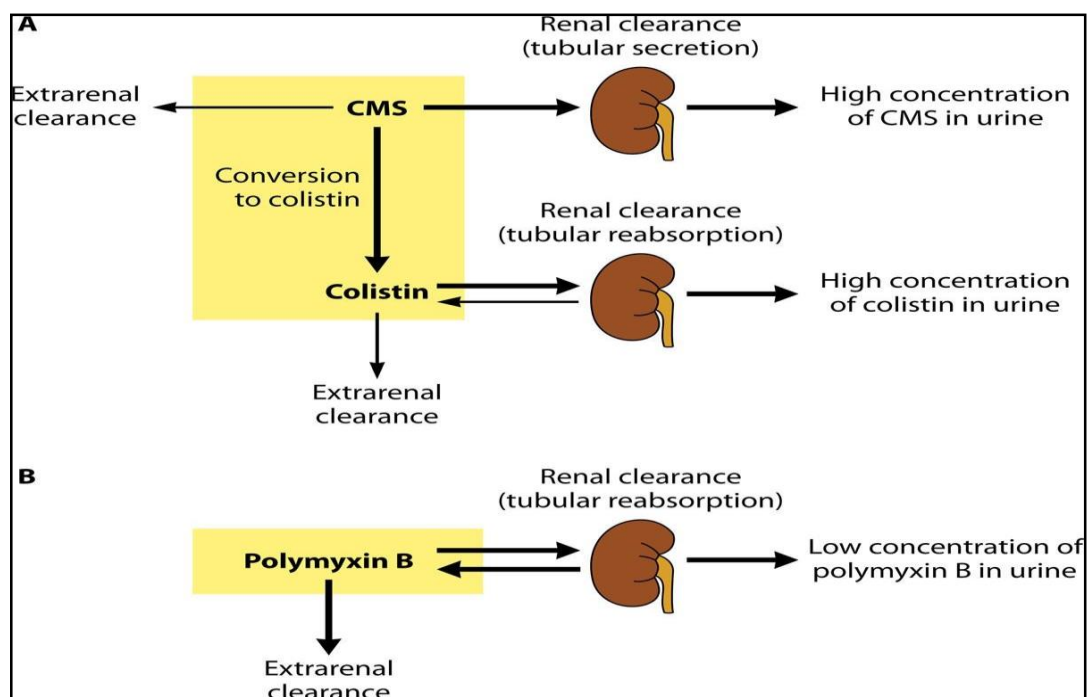


Figure 7. Aperçu des voies pharmacocinétiques pour CMS, la colistine et pour la polymyxine B (**Poirel et coll., 2017**).

L'épaisseur des flèches indique l'importance relative des voies de clairance respectives lorsque la fonction rénale est normale. La CMS comprend tous les dérivés entièrement et partialement méthane sulfoné de la colistine. Après l'administration de la CMS, une excrétion rénale importante du pro-médicament se produit, et une partie de la CMS excrétée est convertie en colistine dans les voies urinaires.

1.6. Utilisation en médecine humaine

Depuis son introduction dans les années 1950, la colistine a été utilisée principalement comme un traitement topique en médecine humaine en raison de sa toxicité lorsqu'elle est administrée par voie systématique. Soixante ans plus tard, la colistine est utilisée comme médicament de dernier recours pour traiter les infections causées par *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Enterobacteriaceae* (**Catry et coll., 2015**). Compte tenu de la rareté des nouveaux antibiotiques, la colistine est souvent le seul antibiotique efficace contre les organismes multi-résistants (**Poirel et coll., 2017**). En plus, la colistine en association avec d'autres antibiotiques tels que les carbapénèmes, est utilisée comme traitement privilégié, en particulier pour les entérobactéries productrices carbapénémase et les autres bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes (**Daikos et coll., 2015**).

Chapitre 03

La résistance à la colistine

1. La résistance naturelle

Plusieurs espèces d'entérobactéries sont naturellement résistantes à la colistine à cause de l'imperméabilité membranaire (**Audery, 2011**). *Bacillus polymyxa* sous-espèce *colistinus* productrice de polymyxines est la seule bactérie ayant un mécanisme de résistance enzymatique par production de colistinase qui hydrolyse la colistine (**Jayol, 2018**).

2. La résistance acquise

2.1. La résistance chromosomique

La résistance à la colistine est due à une diminution de la charge négative nette de la membrane externe, à la perte du lipide A ou à la présence de pompes d'efflux (**Padilla et coll., 2010**).

2.1.1. Modification de lipopolysaccharide

✓ Ajout de groupements cationiques à la surface de LPS

Le mécanisme de résistance le plus courant chez les *Enterobacteriaceae* est la modification covalente de la cible de médicament à savoir la partie lipide A de lipopolysaccharide par substitution cationique (**Shukho et coll., 2019**). Ce mécanisme est constitué par des mutations dans le système de régulation à deux composants, PmrAB et PhoPQ (**yujin et coll., 2020**). Chez *Escherichia coli*, le gène PmrAB active l'opéron *arnBCADTEF* et *eptA*. En condition de faible concentration en Mg^{2+} , le gène PhoPQ inhibe le gène *eptB* en activant le gène MgrR. Le gène PmrD qui est activé par le gène PhoPQ est connu pour stimuler le système PmrAB en présence de concentrations micromolaires de Fe^{3+} , de Al^{3+} et d'un pH légèrement acide (Figure 8) (**Jaennot et coll., 2017**). L'opéron *arnBCADTEF* déclenche la synthèse et l'addition de 4-amino-desoxy-L-arabinose L-Ara4N au lipide A et *eptA* et *eptB* interviennent dans la synthèse et l'addition de phosphoethanolamine PEtN. L'ajout de ces composants cationiques neutralisent la charge négative nette de lipopolysaccharide et réduisent ensuite l'affinité de la colistine pour ça cible ce qui permet de protéger la bactérie contre la perturbation de la membrane externe par l'antibiotique (**Olaitan et coll., 2014**).

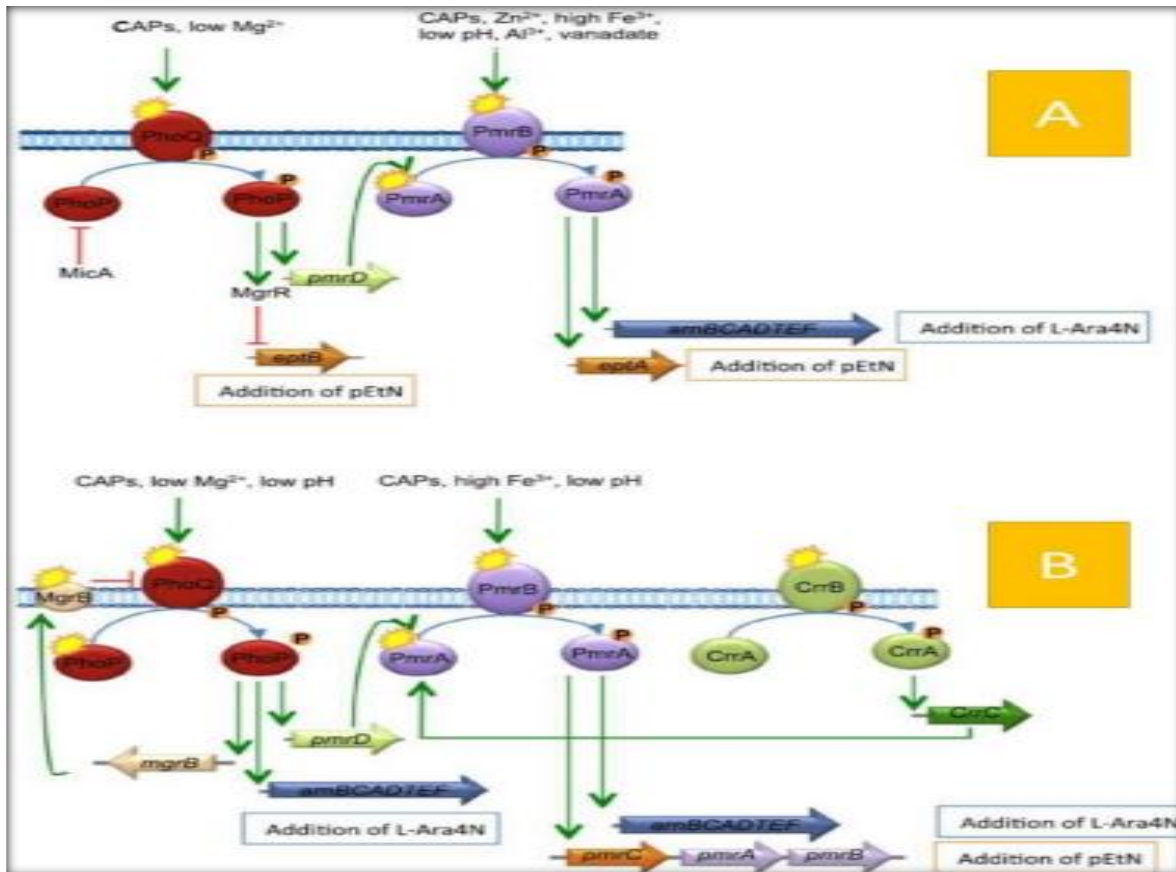


Figure 8. Représentation schématique de la régulation des gènes impliqués dans la résistance à la polymyxine dans les isolats cliniques d'*Escherichia coli* (A) et *Klebsiella pneumoniae* (B) (Jeannot et coll., 2017).

✓ **Modification de l'acétylation du LPS (Chez *Klebsiella pneumoniae*)**

Il est possible que la mutation dans le gène *lpxM* modifie l'acétylation du lipide A, rendant ainsi la souche plus résistante à la colistine. Cependant, il n'est pas possible d'expliquer génétiquement pourquoi les allèles mutés de *yciM* et *lpxM* sont dominants par rapport à l'allèle de type sauvage (Halaby et coll., 2016).

✓ **Augmentation de production du LPS**

La mutation de *yciM* chez *Klebsiella pneumoniae* peut augmenter la production de LPS, ce qui entraînerait des niveaux plus élevés de LPS dans la membrane externe et ce qui pourrait donc compenser l'effet déstabilisant de la liaison de la colistine au LPS (Halaby et coll., 2016).

2.1.2. Pompe d'efflux

La résistance à la colistine causée par un système antiport de transport d'ions potassium a été décrite chez *Yersinia pseudotuberculosis* (**Bengoechea et Skurnik, 2000**). Il est proposé que la pompe d'efflux prévienne l'action des peptides cationiques en acidifiant le cytoplasme et en rejetant l'antibiotique hors de la bactérie. Chez *Klebsiella pneumoniae*, il a été signalé que des mutations dans les gènes *kpnEF* et *AcrAB*, codant pour des composants de pompes d'efflux, peuvent diminuer la CMI de la colistine et améliorer la survie des bactéries à de faibles concentrations de polymyxine (**El-Sayed Ahmed et coll., 2020**). L'ajout d'inhibiteurs de pompes d'efflux diminue la survie des bactéries en présence de polymyxines (**Padilla et coll., 2009**).

2.2. La résistance plasmidique

La résistance bactérienne à la colistine peut être codée sur des éléments génétiques transposables qui sont principalement des plasmides avec des gènes *mcr*. Jusqu'à présentes neuves variantes de ce gène *mcr-1* à *mcr-10* ont été identifiées dans diverses espèces d'entérobactéries.

✓ Le gène *mcr-1*

Le gène *mcr-1* modifie les LPS en codant la protéine MCR-1 qui appartient à la famille de phospho-ethanolamine transférase qui permet l'ajout de ces protéines au lipide A (**Baron et coll., 2016**), et par conséquent les LPS deviennent plus cationique, ce qui induit une résistance à la colistine. Généralement, les souches d'*Escherichia coli* avec le gène *mcr-1* sont caractérisées par la résistance de faible niveau à la colistine (**Shukho et coll., 2019**).

✓ Le gène *mcr-2*

En juin 2016, un nouveau gène de résistance plasmidique nommé *mcr-2* a été identifié dans des souches porcines et bovines d'*Escherichia coli* en Belgique. Les protéines MCR-1 et MCR-2 présentent une identité de 80,65 % (**Xavier et coll., 2016**).

✓ Le gène *mcr-3*

Ce gène a été identifié comme un gène de résistance à la colistine en raison de sa ressemblance avec diverses autres phospho-éthanolamine transférases chez les *Enterobacteriaceae* et les *Aeromonas*, identifiés principalement en Asie du Sud-Est et en Amérique du Nord (**Kempf et coll., 2013**).

✓ **Le gène mcr-4**

En 2017, Carrattoli et ses collaborateurs ont détecté un nouvel homologue de gène de résistance à la colistine à médiation plasmidique mcr-4 chez *salmonella* sur un petit plasmide non auto-conjugué.

✓ **Le gène mcr-5**

Le gène mcr-5 a été identifié pour la première fois chez *Salmonella enterica*. Ce nouveau gène code pour une protéine de 547 acides aminés et il est porté sur un transposon (**Borowak et coll., 2017**).

✓ **Le gène mcr-6**

Abuoun et ses collaborateurs ont découvert en 2017 le gène mcr-6 sur le chromosome de *Moraxella pluranimalium*. Ce gène présentait 87,9 % d'identité avec le gène mcr-2 d'*Escherichia coli*, isolée en Europe à partir d'une source animale.

✓ **Le gène mcr-7**

Le gène mcr-7 partage 70 % d'identité d'acides aminés avec le gène mcr-3. Il a été identifié dans trois souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez des poulets en Chine. Le gène mcr-7 a été trouvé avec le gène blaCTX-M-55 sur un seul plasmide de type IncI2 (**Yang et coll., 2018**).

✓ **Le gène mcr-8**

En 2018, un nouveau variant des gènes mcr, nommé mcr-8, a été décrit en Chine dans une souche de *Klebsiella pneumoniae* d'origine animale (**Nabti et coll., 2020**). La séquence d'acides aminés du MCR-8 a montré 31,08 %, 30,26 %, 39,96 %, 37,85 %, 33,51 %, 30,43 %, et 37,46 % d'identité avec MCR-1, MCR-2, MCR-3, MCR-4, MCR-5, MCR-6, et MCR-7, respectivement. Le clonage fonctionnel montrait que l'acquisition du gène unique mcr-8 chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* augmentait de manière significative la résistance à la colistine (**Wang et coll., 2018**).

✓ **Le gène mcr-9**

Le gène mcr-9 est le dernier homologue de mcr détecté dans une souche de *Salmonella enterica* sensible à la colistine (**carrol et coll., 2019**). La comparaison par paires des structures protéiques prédites des neuf homologues des mcr a révélé que les gènes mcr-3, mcr-4, mcr-7, mcr-9 partagent un haut degré de similarité au niveau structural (**Wang et coll., 2020**).

✓ Le gène mcr-10

Wang et ses collaborateurs ont décrit un nouveau gène mcr-10, sur un plasmide IncFIA. Ce gène présente la plus grande identité nucléotidique avec mcr-9 (82,93 %). Le gène mcr-10 a été trouvé dans de nombreuses espèces d'entérobactéries dans de plusieurs pays **(Wang et coll., 2020)**.

3. Epidémiologie de la résistance à la colistine

3.1. Dans le monde

La prévalence de la résistance à la colistine reste basse dans de nombreux pays **(Purden at coll., 2013)**. La première résistance à la colistine médiée par un plasmide a été détectée dans une souche d'*Escherichia coli* collectée à partir de l'alimentation en chine en 2015 **(Lui et coll., 2016)**. Depuis lors, la résistance à la colistine à médiation plasmidique chez les *Enterobacteriaceae* a été signalée dans le monde entier, y compris dans des infections humaines **(Izdabski et coll., 2016)**. En Europe, les données du réseau européen de surveillance de la résistance antimicrobienne EARS.Net du centre de prévention et de contrôle des maladies ECDC ont montré en 2015 un taux moyen de résistance à la colistine : 1% pour *Escherichia coli* et 9% pour *Klebsiella pneumoniae*, mais cet antibiotique n'était testé de manière systématique que dans six à trente pays **(Kieffer et coll., 2017)**. Dans ce même rapport, le taux moyen de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* et chez *Acinetobacter spp* était de 1% et de 4 % respectivement **(Khader at coll., 2020)**. Une étude réalisée en Afrique du Sud analysant les mécanismes de résistance à la colistine dans les souches cliniques humaines collectées entre 2016 et 2017 a notifié une prévalence de mcr-1 dans 55% des *Escherichia coli* et 71% des isolats de *Klebsiella pneumoniae* **(Theobald et coll., 2019)**.

3.2. En Algérie

Au cours de la dernière décennie, la colistine s'est avérée être le seul antibiotique efficace pour traiter les infections nosocomiales causées par des bactéries multi-résistantes **(Bakour et coll., 2015)**. En Algérie, le premier rapport d'un isolat résistant à la colistine a été publié en 2015, où une souche d'*Acinetobacter baumannii* a été isolée chez des patients du centre hospitalo-universitaire de Beni-Messous à Alger **(Yousfi et coll., 2019)**. C'était le début de plusieurs découvertes sur la résistance bactérienne à colistine en Algérie. Deux autres publications ont décrit la forme de résistance chromosomique chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* chez des

patients hospitalisés dans trois différents services de l'hôpital Ibn Rochd (Annaba, Algérie) (**Bedel et coll., 2017**). Les gènes *mcr-1*, *mcr-3* et *mcr-8* sont les seuls gènes à médiation plasmidique qui ont été décrit jusqu'à présent en Algérie (**Nabti et coll., 2020**).

4. Méthodes de détection de la sensibilité à la colistine

Les tests de sensibilité aux polymyxines représentent un défi majeur, car les infections humaines causées par des bactéries Gram négatives résistantes à la colistine sont associées à une mortalité plus élevée chez les patients (**Capone et coll., 2013**). Les difficultés des tests de sensibilité aux polymyxines sont diverses, notamment la mauvaise diffusion des polymyxines dans la gélose, les propriétés cationiques inhérentes aux polymyxines, l'apparition d'une hétérorésistance aux polymyxines chez de nombreuses espèces, et l'absence d'une méthode de référence fiable pouvant permettre des comparaisons fiables des tests commerciaux (**Landman et coll., 2013**) ; (**Hindler et Humphries, 2013**).

4.1. L'antibiogramme

L'antibiogramme est un test qui a pour objectif de déterminer *in vitro* la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis des antibiotiques. Il s'agit d'un outil qui permet au clinicien de réaliser le choix d'antibiotique efficace pour traiter un patient. L'obtention des résultats de l'antibiogramme dépend des conditions de prélèvement, de l'isolement correct de la bactérie responsable du processus infectieux, de l'âge de la souche, de l'utilisation d'une souche de référence, de la concentration de l'inoculum bactérien, ainsi que du pH du milieu et de l'épaisseur de l'agar (**Jehl et coll., 2015**).

4.1.1. Méthode de dilution

L'objectif des méthodes de dilution est de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI, correspondant à la plus faible concentration de polymyxine qui inhibe la croissance bactérienne visible après une incubation de 16 à 24 h à 37°C. Ces méthodes de dilutions sont des techniques testant une suspension bactérienne dans plusieurs concentrations de colistine dans un milieu liquide avec des dilutions en milieu liquide ou en gélose avec des dilutions en milieu solide (**Jayol, 2017**).

4.1.1.1. Méthode de dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne à une concentration prédéterminée est testée contre diverses concentrations d'agent antimicrobien dans un milieu liquide avec une formulation prédéterminée. Il existe deux types de méthodes de dilution en bouillon : la méthode de macrodilution en bouillon, réalisée avec un volume minimum de 2 ml dans des tubes à essai standard et la méthode de microdilution en bouillon, réalisée avec un volume de 0,05 à 0,1 ml dans des plateaux de microtitration.

4.1.1.2. Méthode de dilution en gélose

La dilution en gélose est une autre méthode de référence qui repose sur diverses concentrations de molécules de polymyxine dans de la gélose Mueller-Hinton MH. Généralement des dilutions en série de 2 fois, suivies de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini sur la gélose. Conformément aux recommandations du CLSI, la poudre de polymyxine est dissolue dans de l'eau stérile et ajoutée à la gélose MH fondue pour obtenir des dilutions 2 fois plus importantes. Un inoculum bactérien correspondant à un standard McFarland de 0,5 est préparé, puis plusieurs dilutions sont effectuées. Un microlitre de cette dilution est déposé manuellement ou à l'aide d'un système automatisé (Poirel et coll., 2017).

4.2. Méthodes de routine pour les tests de sensibilité

4.2.1. Systèmes non automatiques

➤ **Bandes de test ou bandes d'essai**

Des bandes de test contenant un gradient de concentration de colistine sont placées sur la surface de la gélose inoculée, et la CMI est déterminée après une incubation de 16 à 24 heures à 37°C. Cette méthode est facile à réaliser mais elle est relativement coûteuse et ne permet pas de détecter de manière fiable les isolats résistants à la colistine (Hindler et Humphries, 2013).

➤ **Le système UMIC ou Biocentrique**

Le Système UMIC correspond à une dilution en milieu liquide, permettant de tester des souches individuelles pour des concentrations de colistine de 0,06 à 64 mg/L. L'inoculation est effectuée manuellement, et le temps d'incubation requis varie de 18 à 24 heures. Les performances de ce système n'ont pas encore été évaluées (Sader et coll., 2012).

4.2.2. Systèmes automatisés

Plusieurs systèmes automatisés peuvent être utilisés pour tester la sensibilité à la colistine. Deux instruments, le Vitek 2 et le BD Phoenix, peuvent produire des résultats rapidement de 3 à 16 heures avec un système de détection optique, détectant des changements subtils dans la croissance bactérienne, tandis que les autres MicroScan et Sensititre sont des systèmes d'incubation plus longs d'environ 16 à 24 heures. Ces systèmes sont associés à des logiciels permettant d'interpréter les résultats de l'antibiogramme (**Sautrey et coll., 2015**).

4.3. Techniques de détection quantitative

4.3.1. Détection rapide de populations hétérogènes parmi les bactéries Gram négatives résistantes à la colistine par l'utilisation de l'électrophorèse capillaire.

Sautrey et ses collaborateurs ont proposé une méthode d'électrophorèse capillaire pour la détection rapide de populations hétérogènes de souches résistantes à la colistine. Cependant, des développements supplémentaires sont nécessaires pour que ces applications puissent être utilisées quotidiennement dans les laboratoires cliniques (**Sautrey et coll., 2015**).

4.3.2. Détection rapide des isolats d'*Acinetobacter baumannii* résistants à la colistine par l'utilisation du test micromax

Le test micromax est basé sur la détection des nucléotides libérés, indiquant une détérioration de la paroi cellulaire, en présence de colistine (**Tamayo et coll., 2013**). Après incubation avec 0,5 µg/ml de colistine, les souches sont considérées comme résistantes à la colistine si $\leq 11\%$ des bactéries présentent des dommages à la paroi cellulaire.

Les bactéries sont incubées pendant 90 minutes dans un bouillon Mueller-Hinton MH pour obtenir une croissance exponentielle, puis incubées pendant 60 minutes avec de la colistine à des concentrations de 0 et de 0,5 µg/ml, respectivement. Les bactéries incluses dans l'agarose sont incubées avec une solution de lyse qui n'élimine que les parois cellulaires affaiblies. L'ADN fragmenté libéré peut être coloré avec le fluorochrome SYBR gold et visualisé par microscopie à fluorescence. Cette méthode est plus rapide que la microdilution automatique de routine.

4.3.3. Détection rapide des isolats d'entérobactéries résistants à la colistine par l'utilisation du test Rapide Polymyxin NP.

Le test est considéré comme positif indiquant une résistance à la polymyxine si l'isolat se développe en présence de colistine tandis qu'il est considéré comme négatif indiquant une sensibilité à la polymyxine si l'isolat ne se développe pas en présence de polymyxine. Ce test est rapide, il est moins de 2 h et facile à réaliser (**Nordmann et coll., 2016**).

Conclusion

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes est l'une des principales raisons de la réintroduction de la colistine pour le traitement des infections causées par les bactéries à Gram négatif multi-résistantes. Cependant, l'utilisation massive de la colistine en médecine humaine a favorisé l'apparition et l'émergence de bactéries résistantes à cet antibiotique.

La résistance acquise à la colistine peut être chromosomique ou plasmidique. Il s'agit essentiellement des mutations dans des gènes régulant l'ajout des groupements cationiques (le gène *pmrC*, *pmrE* et l'opéron *pmrHFIJKLM* et le gène *mgrB*) impliqués dans la modification qualitative du LPS.

Récemment, de nombreux autres gènes de résistance ont été découverts avec de hauts degrés de similarité entre eux (*mcr-1* à *mcr-10*), ce qui cause une difficulté d'utilisation des tests de sensibilité aux polymyxines, notamment la mauvaise diffusion des polymyxines dans la gélose, et l'absence d'une méthode de référence fiable.

Des mesures strictes doivent être prises aujourd'hui, telles que l'utilisation rationnelle de la colistine et des autres antibiotiques disponibles pour la santé humaine ou animale, le renforcement des mesures d'hygiène dans les hôpitaux, la mise en place de réseaux locaux et de systèmes nationaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques pour limiter les souches multi-résistantes.

Références bibliographiques

- [1] AbuOun M, Stubberfield E, Duggett N, Kirchner M, Dormer L, Nunez-Garcia J, Randall P, Lemma F, Crook D, Teale C, Smith R , & Anjum M. (2017). *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, V 72(10),p 2745–2749.
- [2] Adamo R, Sokol S, Soong G, Gomez MI. (2004).). *Pseudomonas aeruginosa* flagella activate airway epithelial cells through asialoGM1 and toll-like receptor 2 as well as toll-like receptor 5. *Am J Respir Cell Mol Bio* .v 30 ,p 627-34.
- [3] Avril L, Dabernat H, Denis F, & Monteil H. (2000). *Bactériologie clinique*. Ellipses Edition Marketing SA.
- [4] Bakour S, Olaitan O, Ammari H, Touati A, Saoudi S, Saoudi K, & Rolain M. (2015). Emergence of Colistin- and Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report.). *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*.v 21(3), p279-285.
- [5] Balasubramanian D, Schneper L Kumari H, Mathee K. (2013). A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Nucleic Acids Res*. 41 p11-20.
- [6] Baron S, Linda Hadjadj, Jean-Marc Rolain, Abiola Olumuyiwa Olaitan,. (2016). *International Journal of Antimicrobial Agents*. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.06.023.
- [7] Belbel Z, Lalaoui R, Bakour S, Nedjai S, Djahmi N, & Rolain M. (2017). First report of colistin resistance in an OXA-48- and a CTX-M-15 producing *Klebsiella pneumoniae* isolate in Algeria due to PmrB protein modification and mgrB inactivation. . *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. v 14,p 158–160. doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.014.
- [8] Bengoechea A, & Skurnik, M. (2000). Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. *Molecular Microbiology*. v37(1), p 67–80.
- [9] Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. (2015). Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*.
- [10] Borowiak M, Fischer J, Hammerl JA, Hendriksen RS, Szabo I, Malorny B. (2017). Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase

gene, mcr-5, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J Antimicrob Chemother.* p17-24.

[11] Cajal Y, Ghanta J, Easwaran K, Surolia A, & Kumar M. (2010). Specificity for the exchange of phospholipids through polymyxin B mediated intermembrane molecular contacts. *Biochemistry.* v35(18), p5684–5695. doi.org/10.1021/bi952703c.

[12] Capone A, Giannella M, Fortini D, Giordano A, Meledandri M, Ballardini M, Carattoli A, Petrosillo N, Venditti M, Bordi E, Capozzi D, Balice MP, Tarasi A, Parisi G, Lappa A,. (2013). High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of Mortality. *Clin Microbiol Infect.* doi.org/10.1111/1469-0691.12070.

[13] Carattoli A, Villa L, Feudi C, Curcio L, Orsini S, Luppi A, Pezzotti G, Magistrali CF. (2017). Novel plasmid-mediated colistin resistance mcr-4 gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill* 22.

[14] Carroll L, Gaballa A, Guldimann C, Sullivan G, Henderson L , & Wiedmann M. (2019). Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene mcr-9 in a Multidrug-Resistant,. *Colistin-Susceptible Salmonella enterica Serotype Typhimurium Isolate.* *MBio*, 10(3). doi.org/10.1128/mBio.00853-19.

[15] Catry B, Cavaleri, M., Baptiste, K., Grave, K., Grein, K., Holm, A., Jukes, H., Liebana, E., Lopez Navas, A., Mackay, D., Magiorakos, A.-P., Moreno Romo, M. A., Moulin G, Muñoz Madero C, Matias Ferreira Pomba M, Powell M, Pyörälä S, Rantala. (2015). Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. . *International Journal of Antimicrobial Agents*, v46(3), p297–306.

[16] Cazanave C (2018). Bactériémie à entérobactéries productrices de BLSE: actualités, Université de Bordeaux, p1-6.

[17] Choi C, Lee J, Lee Y, Park T, Lee J (2008). *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. *BMC. Microbiology.* , p8-216.

- [18] Clausell A, Garcia-Subirats M, Pujol M, Busquets M, Rabanal F, & Cajal Y. (2010). Gram-negative outer and inner membrane models: insertion of cyclic cationic lipopeptides. *The Journal of Physical Chemistry. B* , v111(3), p551–563. doi.org/10.1021/jp064757.
- [19] Delahoy M, Wodnik B, McAliley L, Penakalapati G, Swarthout J, Freeman M, Levy K. (2018). Pathogens transmitted in animal feces in low and middle income countries,. *International Journal of hygiene and environmental Health*, vol 221 , p661-676. doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.03.005.
- [20] Delarras C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures, Ed Lavoisier, Paris: p1-800.
- [21] Denamur E et Picard B. (2012). Virulence et résistance : deux caractéristiques antagonistes chez *Escherichia coli*, SRLF et Springer-verlag. V(21), p249-251. Doi :10.1007/s13546-012-0465-x
- [22] Donnenberg MS. (2010). *Enterobacteriaceae* [Chapter 218]. In: Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7th. ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier , p:2815–34.
- [23] Dortet, L., Bonnin, R., Jousset, A., Gauthier, L., & Naas, T. (2016). Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance. *Journal Des Anti-Infectieux,, 18(4)*, 139–159.
- [24] Eisenstein B, Zaleznif D. (2000). *Enterobacteriaceae*. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2294-2310.
- [25] El-Sayed Ahmed M, Zhong L, Shen C, Yang , Doi Y, & Tian B. (2020). Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerging Microbes & , 9(1)*, 868–885.
- [26] Eyquem A, Alouf J, Montagnier JL. . (2000). Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments. PICCIN. p238.
- [27] Fatma Z. (2014). Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*.
- [28] Gaddy J, Actis L.A. (2009). Regulation of *Acineto-bacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol.V(4)*,p 273-278.

- [29] Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, & Couet W. (2017). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clinical Pharmacokinetics*, v 56(12), p1441–1460. doi.org/10.1007/s40262-017-0561-1.
- [30] Halaby T, Kucukkose E, Janssen A, Rogers M, Doorduijn D, van der Zanden A. G, Al Naiemi N, Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., & van Schaik, W. (2016). Genomic Characterization of Colistin Heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae* during a Nosocomial Outbreak. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
- [31] Hindler JA, Humphries RM. (2013). . Colistin MIC variability by method or contemporary clinical isolates of multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol*. p78-84.
- [32] Imlay A. (2014). The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium. *Nature Reviews. Microbiology* v11(7), p 443–454. doi.org/10.1038/nrmicro3032.
- [33] Jayol A. (2017). *Hafnia* an *enterobacterial* genus naturally resistant to colistin revealed by three susceptibility testing methods. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v 72(9), p2507–2511. doi.org/10.1093/jac/dkx154.
- [34] Jeannot, K., Bolard, A., & Plésiat, P. (2017). Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v49(5), p526–535.
- [35] Jehl.F, A. Chabaud, A. Grillon. (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux*..doi.org/10.1016/j.antinf.2015.08.003
- [36] Joly, B, & Reynaud, A. (2004). Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic. *FEUILLETS DE BIOLOGIE* , p69.
- [37] Jonas Bonnedahl et al.(2008) . Dissemination of Multidrug-Resistant.
- [38] Kaper J, Nataro P, & Mobley H. (2004). Pathogenic escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*. v2(2), p123–140.
- [39] Karolina kowaska (2011). formation of biofilm in *Pseudomonas aeruginosa*:molecular characterisation of the macromolecular complex .
- [40] Kempf I, Fleury M, Drider D, Bruneau M, Sanders P, Chauvin C, Madec J, & Jouy, E. (2013). What do we know about resistance to colistin in *Enterobacteriaceae* in avian

and pig production in Europe? *production in Europe? International Journal of Antimicrobial Agent*, 42(5),p 379–383.

[41] Kerr KG, Snelling AM. (2009). *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *Journal Hosp Infect* , p73-338 .

[42] Khedher.B, Baron S, Riziki T, Ruimy R., Raoult D, Diene M, and Rolain, J.-M. (2020). Massive analysis of 64,628 bacterial genomes to decipher water reservoir and origin of mobile colistin resistance genes: is there another role for these enzymes? *Scientific reports* 10(1): 5970. doi:10.1038/s41598-020-63167-5.

[43] Kieffer N, Nordmann P, Poirel L. . (2017). *Moraxella* Species as Potential Sources of MCR-Like Polymyxin Resistance Determinants. . *Antimicrob Agents Chemother*.

[44] Krall R, Sun J, Pederson KJ, Barbieri JT. (2002). *In vivo* rho GTPase-activating protein activity of *Pseudomonas aeruginosa* cytotoxin ExoS. *Infect Immun* , p70

[45] Landman D, Salamera J, Quale J. (2013). . Irreproducible and uninterpretable polymyxin B MICs for *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol*,p 06-11.

[46] Li j, Nation RL, Velkov T,. (2014). Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis*. 2014;59:88–94. doi:10.1093/.

[47] Liu Y, Wang Y, Walsh R, Yi L, Zhang R., Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong, B., Huang, Yu L, Gu D, Ren, H, Chen X , Lv L, He D, Zhou H, Liang Z., Liu J, & Shen J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet. Infectious Diseases*, 16(2), 161–168

[48] Martí S, Rodríguez-Baño J, Catel-Ferreira M, Jouen-ne T, Vila J, Seifert H, Dé E. (2011). Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter* species.

[49] Mass. (2018). Etude de la résistance à la colistine chez *Escherichia coli*, à partir d'une collection de souches cliniques isolées au CHU de Bordeaux, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

[50] Musken M, Di Fiore S, Dotsch A, Fischer R, Haussler S. (2010). Genetic determinants of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm establishment. *Microbiology* , ;p41.

- [51] Nabti Z., Sahli, Hadjadj L, Ngaiganam P, Lupande-Mwenebitu D, Rolain M, & Diene M. (2019). Autochthonous case of mobile colistin resistance gene *mcr-1* from auropathogenic *Escherichia coli* isolate in Sétif Hospital, Algeria. *In Journal of global antimicrobial resistance* , V19, p356–357.
- [52] Nabt Z, Sahli F, Ngaiganam P, Radji N, Mezaghcha W, Lupande-Mwenebitu, D., Baron, S. A., Rolain, J.-M., & Diene, S. M. (2020). Development of real-time PCR assay allowed describing the first clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate harboring plasmid-mediated colistin resistance *mcr-8* gene in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, V 20, p266–271.
- [53] Nordmann P, et al. (2016). Rapid detection of polymyxin resistance in *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis*.
- [54] Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria *Front Microbiol*. p643.
- [55] Ortwine K., Kaye S, Li J, & Pogue, J. M. (2015). Colistin: Understanding and Applying Recent Pharmacokinetic Advances. *Pharmacotherapy*. : *The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, , V35(1), p11–16. doi.org/https://doi.org/10.1002/phar.1484.
- [56] Osei Sekyere J, Govinden, U, Bester A, & Essack Y. (2016). Colistin and tigecycline resistance in carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: emerging resistance mechanisms and detection methods. *Journal of Applied Microbiology*, V121(3), p601–617 .
- [57] Osman Elrahman Mustafa Abd Elrahman A, Shingray Osman H, Musa M, Tahir M. (2018). Isolation and Identification of *Enterobacteriaceae* from Patients with Community Acquired Urinary Tract Infection. *American Journal of Health Research* , 6(1): p25-31. doi.org/10.11648/j.ajhr.20180601.14.
- [58] Padilla E, Llobet E, Domenech-Sanchez A, Martinez-Martinez L, Bengoechea JA, Alberti S. . (2009). *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. . *Antimicrob Agents Chemother* , p177-83.
- [59] Pier G. (2002). CFTR mutations and host sensibilité to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Curr opin microbiol* , V5(1) : p81-6.

- [60] Poirel, L., Jayol, A., & Nordmann, P. (2017). Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews*, , V30(2), p557 – 596. doi.org/10.1128/CMR.00064-16.
- [61] Pruden A, Joakim Larsson DG, Amézquita A, Collignon P, Brandt K, Graham DW, Lazorchak JM, Suzuki S, Silley P, Snape JR, et al. (2013). Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment. *Environ. Health Perspect*, V(121),p 878–885.
- [62] Rahmatallah N, El Rhaffouli H, Amine IL et al. (2018). Consumption of antibacterial molecules in broiler production in Morocco. *VetMed Sci*. v4, p80–90.
- [63] Rao RS, Karthika RU, Singh SP, Shashikala P, Kanungo R, Jayachandran S., (2008). *Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med microbiol* , v26, p333-37.
- [64] Rita F, Maldonado, Isabel Sa-Correia and Miguel Valvano,(2016). Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. doi:doi: 10.1093/femsre/fuw007.
- [65] Ruimy.R, A.Andremont, (2004),Quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismemoléculaire, impact clinique , et inhibition. Laboratoire de bacteriologie (Pr A.Andremont) groupe hospitalier Bichat. doi: 10.1016/j.reaury/2004.02.003
- [66] Sabnis A, Klöckner A, Becce M, Hagart K, Evans, Mavridou D, Larrouy-Maumus G, Stevens M, & Edwards A. (2020). coistin kills bacteria by targeting lipopolysaccharide in the cytoplasmic membrane. *BioRxiv* , 479618. doi.org/10.1101/479618.
- [67] Sader HS, Rhomberg PR, Flamm RK, Jones RN. (2012). Use of a surfactant polysorbate 80 to improve MIC susceptibility testing results for polymyxine myxin B and colistin. *Diagn Microbiol Infect Dis* , *Diagn Microbiol Infect Dis* 74:412– 414. doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.08.025.

- [68] Sautrey G, Duval RE, Chevalley A, Fontanay S, Clarot I. (2015). Capillary electrophoresis for fast detection of heterogeneous population in colistin resistant. v36, p2630–2633. doi.org/10.1002/elps.201500064
- [69] Shukho Kim, Jung Hwa Woo, Nayeong Kim, Mi Hyun Kim, Se Yeon Kim, Joo Hee Son, Dong Chan Moon, Suk-Kyung Lim, Minsang Shin, Je Chul Lee. (2019). Characterization Of Chromosome-Mediated Colistin Resistance In *Escherichia coli* Isolates From Livestock In Korea. *Infection and Drug Resistance*.
- [70] SOMIPEV (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. <https://pharmacie.ma/uploads/pdfs/Leguide-pratique-des-bacteries-pathogenes.pdf>
- [71] Srinivasan VB, Rajamohan G. (2013). KpnEF, a new member of the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. v 57(4), p49–62.
- [72] Stanley N, Lazazzera B, (2004). Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Mol. Microbiol*. v52, p917-924.
- [73] Tacconelli E. et al., (2014). ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients Agence. *ontarienne de protection et de promotion de la santé, Comité consultatif provincial des maladies infectieuses.*, *Clin Microbiol Infect*, v(20) p21-55.
- [74] Tamayo M, Santiso R, Otero F, Bou G, Lepe JA, McConnell MJ, Cisneros JM, Gosalvez J, Fernandez JL. (2013). Rapid determination of colistin resistance in clinical strains of *Acinetobacter baumannii* by use of the Micromax assay. *J Clin Microbiol*, *J Clin Microbiol* 51:3675–3682. doi.org/10.1128/JCM.01787-13.
- [75] Theobald S, Etter EMC, Gerber D et al. (2019). Antimicrobial resistance trends in *Escherichia coli* in South African poultry: 2009-2015. *Foodborne Pathog Dis*, v (16), p652–60.

- [76] Tran T, Velkov T, Nation R, Forrest A, Tsuji B, Bergen P, & Li j. (2016). Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and polymyxin B: are we there yet? *International Journal of Antimicrobial Agents*. v 48(6),p 592–597.
- [77] Vallet I, Olson J, Lory S, Lazdunski A, et Filloux A. (2001) : The chaperone/usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa*. Identification fimbrial gene clusters (*cup*) and their involvement in biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci* , v98(12) , p 6911–6.
- [78] Vuotto, C. et al. (2017). Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains. . *Journal of applied microbiology* , 123, 1003–1018.
- [79] Wang, C., Feng, Y., Liu, L., Wei, L., Kang, M., & Zong, Z. (2020). . Identification of novel mobile . Identification of novel mobile. *Emerging Microbes & Infections*, v 9(1), p508–516.
- [80] Wang, Xiaoming, Wang, Y., Zhou, Y., Li, J., Yin, W., Wang, S., Zhang, S., Shen, J., Shen, Z., & Wang, Y. (2018). Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM producing *Klebsiella pneumoniae*. . *Emerging Microbes & Infections*, v7(1), p122. .
- [81] Warda Bouchloukh¹, zahia Bouchrit Otmani, Farid Mena, Ryad Djeribi. (2019). Etude de la virulence d'*Acinetobacter Baumannii* dans un modèle d'infection expérimental de Tractus urinaire. p74.
- [82] Warner DM, Levy SB. (2010). Different effects of transcriptional regulators MarA, SoxS and Rob on susceptibility of *Escherichia coli* to cationic antimicrobial peptides (CAMPs): Rob-dependent CAMP induction of the *marRAB* operon.
- [83] Yang Y, Li Y, Lei C, Zhang A, & Wang N, (2018). Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-7.1* in *Klebsiella pneumoniae*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. v 73(7), p 1791–1795.
- [84] Yousfi H, Hadjadj L, Dandachi I, Lalaoui R, Merah A, Amoura K, Dahi A, Dekhil M, Messalhi N, & Diene, S. M. (2019). Colistin- and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates: Algeria. *Microbial Drug Resistance*, v 25(2), p258–263.
- [85] Yujin Choi, Ji-Young Lee¹, Ji-Young Lee², KyeongJin Kang⁴, Suk-Kyung Lim⁵. (2020). Comparison of Fitness Cost and Virulence in Chromosome- and Plasmid-Mediated Colistin-Resistant *Escherichia coli*. doi: 10.3389/fmicb.2020.00798.

[86] Zabidi, M. S., Abu Bakar, R., Musa, N., & Wan Yusuf, W. N. (2020). Analytical methodologies for measuring colistin levels in pharmacokinetic studies. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, v 43(15–16), p671–686.