

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

## *Mémoire de Fin de Cycle*

*En vue de l'obtention du diplôme de Master  
en Microbiologie Moléculaire et Médicale*

### *Thème*

*Etude de la résistance aux Antibiotiques  
Chez les Bacilles à Gram négatif isolés à  
partir des Effluents de deux Hôpitaux de la  
Wilaya de Béjaia (Akhou et Sidi Aich)*

**Présenté par :**

*M<sup>lle</sup> KARI Narimane*

*M<sup>lle</sup> LAIFAOUI Sonia*

### *Membres de Jury*

**Président : M<sup>r</sup> MOUSSAOUI B**

**Promotrice : M<sup>me</sup> YOUSFI K**

**Examineur 1 : M<sup>r</sup> DJOUDI F**

**Examineur 2 : M<sup>r</sup> TOUATI A**

*Promotion 2012/2013*

# Remerciements



*Le présent document couronne nos études universitaires très riches en enseignements et expériences tant sur le plan du savoir scientifique que de celui de la vie en collectivité.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice M<sup>me</sup> Yousfi.*

*Tout comme nous exprimons les mêmes sentiments de gratitude à tous les enseignants  
Qui nous ont comptés parmi leurs étudiants tout le long de ces cinq années  
Particulièrement M. TOUATI pour nous avoir orienté et conseiller*

*Nous exprimons aussi nos meilleurs sentiments de gratitude aux honorables membres  
de Jury qui ont accepté d'évaluer notre modeste travail.*

*En ce moment précis, toutes nos pensées vont vers nos honorables parents en  
reconnaissance à leur esprit de sacrifice et de dévouement ainsi qu'à leur soutien constant –  
moral et matériel – et ce, pour nous avoir permis de construire un avenir certain et en même  
temps réaliser nos rêves.*

*Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui nous ont contribué de près  
ou de loin à la réalisation de ce travail ou qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment*

*Merci encore et encore...*





# Dédicaces

## Dédicaces

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :*

*✎ A ceux qui sont mon exemple de la réussite, que j'ai tant aimés et respectés, qui m'ont donnés de l'amour ; de la tendresse, du soutien et de la force, mes très chers parents; que Dieu vous protèges et vous prête tous une longue et heureuse vie.*

*✎ A la mémoire de mon cher Anclé Djamel. Qui nous a quitter le 09.04.2013, que j'aurais aimé que tu sois présent en se jour. Et je te souhaite que dieu t'accueille dans son vaste paradis.*

*✎ A ma très chère enseignante du primaire « M<sup>me</sup> BOUBEKRI Lyfa » que j'ai toujours considéré comme une Deuxième mère .et je la souhaite de tout mon cœur une longue et heureuse vie.*

*✎ A mon cher frère Lyes que je lui souhaite avoir une bonne mention dans sa soutenance et la réussit dans sa vie professionnelle ainssi que personnelle.*

*✎ A ma Chère et jolie sœur Ilham et je lui souhaite la réussite au Bac et une belle vie plein de joie et de bonheur.*

*✎ A toute la famille KARI et MEKARNI sans exception.*

*✎ A tous mes amis (es) pour leur soutien, leur aide et leur présence.*

*✎ A ma très chère amie et collègue Sonia, ensemble nous avons partagés d'agréables moments tout au long de la réalisation de ce travail et de notre cursus universitaire. A toute la promotion MASTER de microbiologie moléculaire et médicale*

*Narimane*





# Dédicaces



*En ce moment charnière dans ma vie, je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour.*

*A la mémoire de mes grands-parents Zahra, Saïd et Mouhand Saïd*

*Que Dieu, le tout puissant, les accueille dans son vaste paradis*

*Aux deux êtres les plus chers au monde, mes parents qui n'ont pas cessé de m'encourager en me prodiguant de précieux conseils, sensible à leur amour.*

*C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection.*

*A ma très chère grand-mère Nouara que Dieu l'accorde une longue vie.*

*A mes adorables frères Nabil, Lyes et Azzedine*

*A ma chère sœur Souad*

*A ma belle-sœur Samira*

*A mon petit cher neveu Sayfaddine*

*A mes oncles Dada Abdallah et Dada Moustapha ainsi que leurs familles.*

*A mes tantes ainsi que leurs familles.*

*A ma binôme Narimane qui m'a supporté tout au long de cette période.*

*A mes cousines et mes cousins*

*A mes amies ; Je ne prendrai pas le pari de les citer*

*A toute la promotion Microbiologie LMD 2013.*

*A tous mes enseignants du primaire à ce jour*

*A tous les êtres chers à mes yeux qui m'aiment que je n'ai pas évoqués.*

**Sonia**



## *Liste des tableaux*

<b>N° du tableau</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>page</b>
I	Principales informations sur les prélèvements	07
II	Représentation des diamètres de l'antibiogramme des souches issues de l'hôpital d'Akbou	12-13
III	Représentation des diamètres de l'antibiogramme des souches issues de l'hôpital de Sidi Aich	13-15
IV	Milieux de culture et réactifs utilisés	Annexe I
V	Liste des antibiotiques utilisés	Annexe II
VI	Lecture de la galerie API20E	Annexe III
VII	Résultats d'identification par la galerie API20E pour le prélèvement d'Akbou	Annexe IV
VIII	Résultats d'identification par la galerie API20E pour le prélèvement de Sidi aich	Annexe IV

## *Liste des figures*

<b>N° de figure</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>page</b>
1	Disposition des disques de $\beta$ -lactamines dans le DD-test.	10
2	Fréquence d'espèces isolée à partir des effluents des deux hôpitaux (Akbou et Sidi Aich)	11
3	Représentation des taux de résistantes des souches isolée vis-à-vis les différents antibiotiques	15
4	Représentation du taux de souches productrices de BLSE par espèces	16
5	Fiche de lecture des résultats de galerie API 20E	Annexe III

## *Liste des abréviations*

<b>AB</b>	: Absence
<b>ADH</b>	: Arginine déshydrolase
<b>AmpC</b>	:Céphalosporinases
<b>AMC</b>	: Amoxicilline / Acide clavulanique
<b>ARA</b>	: Arabinose
<b>ATB</b>	: Antibiotique
<b>ATM</b>	: Aztréoname
<b>AMY</b>	: Amylose
<b>BLSE</b>	: β-lactamases à spectre élargi.
<b>BMR</b>	: Bactérie Multi-Résistante.
<b>CAZ</b>	: Ceftazidime.
<b>CA-SFM</b>	: Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
<b>CIP</b>	: Ciprofloxacine
<b>CIT</b>	: Citrate
<b>CRO</b>	: Ceftriaxone
<b>CTX-M</b>	: Céfolaximase Munich
<b>CTX</b>	: Cefotaxime.
<b>C1G</b>	: Céphalosporines de première génération.
<b>C2G</b>	: Céphalosporines de deuxième génération.
<b>C3G</b>	: Céphalosporines de troisième génération.
<b>C4G</b>	: Céphalosporines de quatrième génération.
<b>DBO5</b>	: Demande biochimique en oxygène.
<b>DCO</b>	: Demande chimique en oxygène.
<b>DD-test</b>	: Double disc test.
<b>E.P.H.</b>	: Etablissement populaire Hospitalier.
<b>FEP</b>	: Céfépime
<b>FOX</b>	: Céfoxitine
<b>GEL</b>	:Gélatine
<b>GEN</b>	:Gentamicine
<b>GLU</b>	: Glucose
<b>H<sub>2</sub>S</b>	:Sulfate d'hydrogène
<b>HGT</b>	: transfert horizontale de gènes
<b>I</b>	: Intermédiaire

**INO** : Inositol  
**IPM** : Imipenème  
**KPC** : *Klebsiella pneumoniae* Carbapénèmase  
**LDC** : Lysine Décarboxylase.  
**MAN** : Mannitole  
**MBL** : Métallo-β-lactamase  
**MEL** : Mélobiose  
**MH** : Mueller Hilton.  
**N** : Non Testée  
**NR** : Nitrate réductase.  
**OXA** : Oxacillines.  
**ODC** : Ornithine décarboxylase  
**PR** : Présence  
**PLP** : Protéines Liant les Pénicillines.  
**R** : Résistant  
**RHA** : Rhamnose  
**RM** : Rouge de Méthyle.  
**S** : Sensible  
**SAC** : Saccharose  
**SHV** : Sulf hydryl Variant.  
**SOR** : Sorbitole  
**STEP** : Stations d'Épurations des Eaux  
**SXT** : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole  
**TDA** : Tryptophane désaminase  
**TEM** : Temoniera.  
**TOB** : Tobramycine  
**UFC** : Unité Format Colonie  
**VP** : Voges Proskauer



## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Liste des abréviations

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	01
---------------------------	----

### **Matériel & méthodes**

I. Durée et lieu de stage .....	06
II. Milieu et réactifs .....	06
III. Prélèvements .....	06
IV. Isolement et mise en culture .....	07
V. Identification .....	08
VI. Test de sensibilité aux antibiotiques .....	09
VII. Détection phénotypique des BLSE .....	10

### **Résultats**

I. Isolement et identification des souches bactériennes .....	11
II. Sensibilité des souches aux antibiotiques .....	12
III. Antibiorésistance des souches .....	15
IV. Détection phénotypique des BLSE .....	16

### **Discussion**

Discussion .....	17
------------------	----

### **Conclusion**

Conclusion.....	21
-----------------	----

La découverte des antibiotiques par Alexander Fleming en 1929 est l'une des plus grandes avancées en science médicale. Ils présentent probablement la famille la plus réussie des médicaments développés pour traiter et empêcher les infections bactériennes humaines. Autre cette application, les antibiotiques ont également été utilisés pour prévenir et traiter les animaux et les infections des plantes ainsi que pour promouvoir la croissance dans l'élevage (Martinez , 2009).

Les  $\beta$ -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. la grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leur popularité et l'importance de leur utilisation, seules ou en associations (Cavallo et *al.*, 2004 ; Brown et *al.*, 2006 ; Diab et *al.*, 2008).

L'usage des antibiotiques avec une mauvaise compréhension de leur impact écologique et leur utilisation sur les bactéries induit à la sélection des mutants résistants (Sanders, 2001) ; la sur-utilisation des antibiotiques et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux sources importantes conditionnant l'évolution de la résistance (Andremont, 2002). Cette dernière est augmentée ces dernières années dans les différents pays, y compris la résistance aux  $\beta$ -lactamines, aux fluoroquinolones, et aux aminosides...etc (Malat, 2009).

Plusieurs mécanismes de résistance ont été mis en évidence chez les bacilles Gram négatif qui sont, par ailleurs, responsables de la majorité des infections hospitalières (60%) et sont de plus en plus multirésistants (Bolla et *al.*, 2011). Cette résistance peut être naturelle ou acquise (Sun et *al.*, 2009). Ce groupe de bactéries, représente trois principaux types de mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par les  $\beta$ -lactamases (Essack, 2001 ; Cavallo et *al.*, 2004 ; Cattoir, 2008).

Les deux classifications couramment utilisées pour « classer » les  $\beta$ -lactamases sont celle d'Ambler et celle de Bush Jacoby et Medeiros (Vodovara et *al.* ;2012) dont la classification moléculaire d'Ambler place les  $\beta$ - lactamases dans quatre classes : trois classes d'enzymes à sérine (A, C, et D) et une classe (B) de métallo- $\beta$ -lactamases. Bush a proposé une classification fonctionnelle complète des  $\beta$ -lactamases en 1989, qui a été remise à jour en

1995 pour inclure moins de 190  $\beta$ -lactamases (Wright, 2005 ; Wax et *al.*, 2008). Cette classification vient d'être remise à jour pour une seconde fois en 2009. Ce nouveau système de classification fonctionnelle subdivise les  $\beta$ -lactamases bactériennes en trois groupes possédant une série de sous-groupes : le groupe 1 (classe C) des céphalosporinases, le groupe 2 (classe A et D) des inhibiteurs résistants à large spectre, des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénèmes à sérine, et le groupe 3 (classe B) réunissant les métallob $\beta$ -lactamases, le groupe 4 existant dans la classification de Bush et *al.* en 1995 à été éliminé (Bush et Jacoby, 2010 ; Battegay et Widmer, 2010).

La résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines est assurée principalement par des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) responsables de la résistance bactérienne à tous les  $\beta$ -lactamines, à l'exception des carbapénèmes et des céphamycines qui sont empêchées par les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases tel que l'acide clavulanique. Des gènes codant pour cette résistance peuvent être transférés verticalement (à la progéniture bactérienne) ou horizontalement (parmi des bactéries d'affiliation taxonomique différente) (Korzeniewska et Harnisz, 2013). Actuellement, il y a plus de 300 sous-types de BLSE (Bush et Jacoby, 2010).

Ces dernières années, l'attention croissante a été prêté à la présence de bactéries résistantes dans l'environnement aquatique tels que les eaux usées, les eaux de surfaces et les eaux souterraines, y compris les effluents hospitaliers (Kummerer, 2004 ; Focazio et *al.*, 2008 et Watkinson et *al.*, 2009). Ces derniers ont le pire impact sur l'écosystème aquatique, principalement en fonction de leur potentiel de bioaccumulation de différentes molécules (Jean et *al.*, 2012). La faible efficacité du traitement des eaux usées hospitalières, peut contribuer à la diffusion des bactéries résistantes et multi-résistantes de l'hôpital à l'environnement (Chagas et *al.*, 2011 ; Figueira et *al.*, 2011 ; Harnisz, 2013).

La plupart des antibiotiques administrés aux patients ne sont pas totalement assimilés ou métabolisés par l'organisme, ainsi une quantité significative allant de 30 à 90% est excrétée dans les urines et d'autres liquides biologiques (sueurs, larmes,...) (Diab et *al.*, 2008 ; Martinez, 2009 et Diwan et *al.*, 2010). Différentes études ont rapporté la présence de résidus d'antibiotiques dans les effluents hospitaliers avec une prévalence de fluoroquinolones trouvée par Kummerer. (2003) en Allemagne et en Suisse par Giger et *al.* (2003). Alors que celle faite par Gómez et *al.* (2006) En Espagne montre que les sulfamides sont les plus

répondus. Une autre étude menée par Chitnis et *al.* (2003) en Allemagne qui ont signalés que les quantités de  $\beta$ -lactamines trouvées étaient inférieures à quelques  $\mu\text{g/L}$ . Bien que les  $\beta$ -lactamines soient les plus utilisés en clinique, leur présence dans les effluents hospitaliers n'a pas été jusqu'à lors rapportée fréquemment dans la littérature. Cela n'est pas claire si cela est dû au clivage du noyau  $\beta$ -lactame, ou à leur métabolisation élevé par rapport aux autres antibiotiques (Kummerer, 2009 ; Diwan et *al.*, 2010).

Certains travaux ont montré que la réduction de la charge des antibiotiques dans les écosystèmes naturels peut réduire la quantité des gènes de résistance aux antibiotiques polluants (Martinez, 2009). Cependant, la faible concentration de ces molécules et de leurs résidus est susceptible d'affecter les bactéries sensibles et de sélectionner des souches résistantes (Martinez, 2009 ; Luczkiewicz et *al.*, 2010). En effet, les STEP (Stations d'Épurations des Eaux) sont considérées comme des contributeurs importants à la diffusion des antibiotiques humains dans l'environnement (Kummerer, 2004 ; Zuccato et *al.*, 2010)

Les résidus d'antibiotiques ont pu jouer un rôle dans le développement, l'entretien, le transfert et la diffusion de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Richardson et *al.*, 2005 ; Korzeniewska et Harnisz, 2013). Cette résistance peut être due à des mutations affectant des gènes présents sur le chromosome ou à l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes peuvent provenir du chromosome d'espèces différentes ou être véhiculés par des éléments génétiques mobiles pouvant être transférés d'une bactérie à une autre ; on parle de transfert horizontal (THG). Ce transfert permet une diffusion rapide des gènes de résistance et peut, parfois, se produire entre des bactéries très éloignées sur le plan phylogénique. (Castiglioni et *al.*, 2010).

Il a été démontré que les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent migrer entre les systèmes aquatiques reliés. Il est difficile de savoir si la présence de gènes de résistance aux antibiotiques est le résultat de la migration des bactéries résistantes ou la transmission de gènes de résistance par HGT (Koike et *al.*, 2007 ; Martinez, 2009).

Des inquiétudes ont été soulevées concernant la présence de résidus d'antibiotiques et de bactéries résistantes dans les effluents hospitaliers. Ces derniers, peuvent se retrouver dans l'environnement aquatique et dans le sol ce qui implique des problèmes de santé publique ultérieures et un effet sur le développement de la résistance bactérienne (Diwan et *al.*, 2010). La persistance des antibiotiques dans les rejets et leur présence à long terme dans

## Introduction

---

l'environnement pourrait constituer une certaine menace dans l'écosystème aquatique (Tao et *al.*, 2010 ; Zhou et *al.*, 2010).

Les antibiotiques transportés dans l'environnement, grâce à des sources humaines et animales, conduisent à la résistance bactérienne en induisant des effets nuisibles sur la qualité de l'eau (Chang et *al.*, 2010). Les gènes codant cette résistance peuvent par la suite atteindre les pathogènes de l'homme par la chaîne alimentaire via une contamination accrue de l'eau potable (souterraine et surface), eau traitée et recyclée utilisée pour l'irrigation (Martinez, 2009 ; Kümmerer, 2004).

Peu d'études se sont intéressées à la recherche des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux usées hospitalières, parmi lesquelles celle faite au Danemark en 1997, qui a montré la prévalence des *Acinetobacter* résistants à l'oxytétracycline (Guardabassi et *al.*, 1998). Dans le même pays une autre étude réalisée par Jacobsen et *al.* 2008 ont étudié la propagation et la diffusion de bactéries résistantes et pathogènes isolées des eaux usées hospitalières. Elmanama et *al.* 2006 ont trouvé que chez des souches Gram négatif, il y avait de grandes variations en ce qui concerne leur réponse aux antibiotiques testés.

L'étude de Diab et *al.* 2008 s'est portée sur les effluents de 5 hôpitaux d'Al-Madinah Al-Mounwwarah, a montré que 70% des souches qu'ils ont isolées sont des bacilles à Gram négatif et que la majorité d'entre elles sont résistantes, c'est le cas des entérobactéries isolés qui sont résistants à 9 différents antibiotiques parmi les 24 testés.

Une autre étude faite aux Etats Unis par Akiyama et Savinen 2010 a étudié la résistance des bactéries coliformes dans les effluents hospitaliers.

Au Brésil une étude a été faite par Fuentefria et *al.* 2011 fondée sur l'étude de la résistance de *Pseudomonas aerogenosa* isolée à partir d'eaux usées ; au même pays Chagas et *al.* 2011 a étudiée la diversité bactérienne codée par des gènes de  $\beta$ -lactamase dans l'eau usée hospitalière à Rio de Janeiro. Récemment une étude réalisée par Korzeniewska et *al.* 2013 ; fondé sur la résistance des entérobactéries productrice de BLSE isolées à partir des eaux d'égout de trois hôpitaux en Pologne.

En Algérie, aucune publication na été enregistrée à propos de cette thématique ;

## Introduction

---

C'est dans cette optique qu'on s'est intéressé à la recherche des bacilles à Gram négatif multi-résistants et à évaluer le taux de BLSE produites par les souches isolées à partir des eaux usées de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia : l'Etablissement Public Hospitalier (E.P.H) « Akloul Ali » d'Akbou ; et l'hôpital « Rachid Belhousine » de Sidi Aich.

Pour cela nous avons opté pour le plan suivant :

- ✓ Isolement et identification des souches à partir de prélèvement d'effluents de ces deux hôpitaux ;
- ✓ Réalisation d'un antibiogramme standard afin de déterminer, les profils de résistance ;
- ✓ Mise en évidence des BLSE (DD-test).

### I. Durée et lieu de stage

Cette étude a été réalisée sur une période allant du mois de février au mois de Mars de l'année 2013 au niveau du laboratoire d'Ecologie microbienne de l'université Abderrahmane MIRA de Bejaia.

### II. Milieux et réactifs

Les différents milieux de culture et réactifs utilisés et leur composition est donnée en Annexe I.

- ❖ Les antibiotiques en poudre utilisés sont : la Ceftazidime (CAZ) et Ceftriaxone (CRO).
- ❖ Les antibiotiques en disque utilisés pour l'antibiogramme standard sont : la Céfoxitine (FOX), Imipénème (IMP), Gentamicine(GEN), Ciprofloxacine (CIP), Tobramycine (TOB) et Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (SXT)
- ❖ Les antibiotiques en disque utilisés pour le test de synergie sont : céfotaxime(CTX), ceftazidime(CAZ),céfépime (FEP),disque d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) et l'aztréoname(AZT)

La charge et la famille de chaque antibiotique utilisée est donnée dans l'Annexe II

### III. Prélèvements

Huit échantillons d'eau usée de 200ml sont collectés au niveau de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia : l'Etablissement Populaire Hospitalier (E.P.H) « Akloul Ali » d'Akbou ; et l'hôpital « Rachid Belhousine » de Sidi Aich .

Le premier prélèvement est effectué au niveau des conduites des eaux usées de l'hôpital d'Akbou de la wilaya de Bejaïa. Deux échantillons sont récupérés d'une bouche d'égout du réseau d'assainissement principal et les deux autres sont prélevés à partir de deux autres bouches d'égout des différents services.

Le deuxième prélèvement est effectué au niveau des conduites des eaux usées de l'hôpital de Sidi Aich de la wilaya de Bejaia, deux échantillons sont récupérés à partir d'une station d'épuration non fonctionnelle. Les deux autres sont prélevés au niveau de deux bouches d'égout de divers services. Les dates, les lieux et les services de chaque échantillon choisi sont décrits dans le tableau I.

## Matériel et méthodes

Les échantillons sont récupérés dans des flacons en verre stériles d'un volume de 200 ml contenant chacun 1 ml du thiosulfate de sodium à une concentration de 20 µg/ml.

La méthode de prélèvement utilisée est comme suit :

- Des flacons stériles reliés avec un fil sont ouverts sur le champ et sont introduits directement dans la bouche d'égout ;
- Les échantillons ainsi récupérés sont étiquetés et transportés dans une glacière, en moins de 3 heures, au laboratoire.

**Tableau I:** Principales informations sur les prélèvements.

Hôpital	Date et heure du prélèvement	Échantillon	Services concernés
E.P.H « Akloul Ali » d'Akbou	Jeudi le 14 février 2013 à 10 h 00	E1	Chirurgie bloc opératoire, médecine femme, médecine homme.
		E2	Laboratoire, pédiatre, administration.
		E3	Bouche d'égout principale.
		E4	
Hôpital «Rachid Belhousine » de Sidi Aich	Mardi le 19 mars à 10 h 25	E1	Station d'épuration non fonctionnelle.
		E2	
		E3	Bouche d'égout principale sauf (Bloc opératoire, Urgence et Pharmacie).
		E4	Bloc opératoire.

### IV. Isolement et mise en culture

Le protocole suivi est celui de Diab et *al.*, 2008 .

A partir des dilutions des solutions mères des dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  sont préparées dans de l'eau physiologique stérile. Une fois les dilutions sont réalisées, deux séries de 6 boîtes de Pétri contenant le milieu Mac Conkey sont préparées, l'une additionnée de CAZ et



l'autre de CRO à une concentration de 2µg/ml. Ces dernières sont ensemencées en surface avec 100 µl des solutions mères et de leurs dilutions avec un râteau étaleur.

Après 24h d'incubation à 37°C, des isollements successifs sont effectués sur le milieu Mac-Conkey en choisissant diverses colonies d'aspect et de couleur différents.

### V. Identification

Après purification, l'identification des souches isolées est effectuée en utilisant la Galerie API 20E qui est une version miniaturisée des tests biochimiques (21 tests) classiques présentés dans 20 microtubes contenant des substrats déshydratés (bio Mérieux SA, 2010), dont 8 tests biochimiques conventionnels et 12 tests d'assimilation des sucres.

#### ❖ Principe de la galerie API 20E

La galerie API 20E est un système standardisé se basant sur des tests biochimiques qui mettent en évidence les métabolismes bactériens. Elles sont utilisées en diagnostique *in vitro* pour la classification, la détermination et l'identification bactérienne des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif

#### ❖ Inoculation de la galerie

A partir d'une culture fraîche sur milieu gélosé une suspension bactérienne dense est préparée en dissociant 4-5 colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile. Les microtubes sont remplis soigneusement par cette suspension à l'aide d'une Micropipette. Le remplissage des microtubes est effectué en évitant la formation de bulles d'air qui empêcheraient le contact entre les bactéries à identifier et le réactif ou substrat à tester.

Les cupules ont été remplies en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe pour les trois tests CIT, VP et GEL. Les cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent engendrer des résultats incorrects.

Afin de créer les conditions d'anaérobiose requises pour les tests biochimiques de la transformation des acides aminés arginine, lysine et Ornithine, respectivement, par les enzymes ADH, LDC et ODC. La libération d'ammoniac à partir de l'urée grâce à la présence de l'enzyme uréase d'ammoniac (urée) et la production d'H<sub>2</sub>S. Les cupules correspondantes ont été recouvertes d'huile de vaseline.

### ❖ Lecture de galerie

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, on note sur la fiche des résultats de toutes les réactions spontanés puis on révèle les tests nécessitant l'addition de réactifs (TDA, VP et Kovacs). L'identification est ensuite obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification Apident.

Le tableau d'interprétation et la fiche des résultats de la galerie API 20<sup>E</sup> sont illustrées en annexe III.

### VI. Test de sensibilité aux antibiotiques

La détermination *in vitro* des profils de résistance de toutes les souches isolées est effectuée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé MH (Mueller-Hinton) selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

#### ❖ Inoculum

A partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu gélosé, on prélève à l'aide d'une anse de platine 2 à 3 colonies bien isolées et parfaitement identiques, on les dissocie dans 5 ml d'eau physiologique stérile pour avoir une suspension bactérienne d'opacité égale au standard McFarland 0.5 (concentration bactérienne correspondant à  $10^8$  UFC/ml) (CA-SFM, 2010).

#### ❖ Ensemencement

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne préalablement préparée. Ensuite, il est pressé légèrement sur les parois du tube.

La surface gélosée de Mueller Hinton est ensemencée en stries serrées avec l'écouvillon, puis on répète l'opération en tournant la boîte de 60° sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Enfin, on passe l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Les disques d'antibiotiques sont ensuite déposés à l'aide d'une pince stérile sur le milieu Mueller Hinton ensemencé précédemment. L'incubation est réalisée à 37° pendant 24 h.

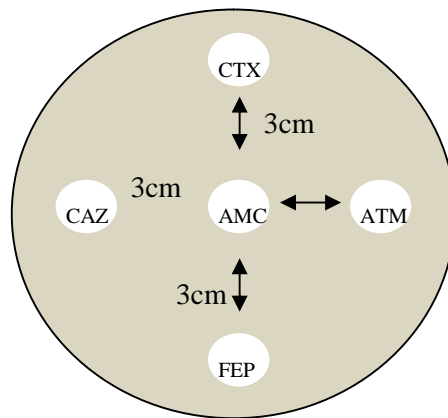
#### ❖ Lecture

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques se manifeste par une zone d'inhibition autour des disques. L'interprétation en sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) a été faite selon les recommandations du (CFA-SFM, 2010).

### VII. Détection phénotypique des BLSE

Le test de synergie est utilisé pour la recherche des BLSE selon la méthode décrite par **Jarlier *et al.* (1988)**. Ce test consiste à déposer autour d'un disque d'amoxicilline /acide clavulanique ou de ticarcilline/acide clavulanique sous forme de croix des disques de céfotaxime , ceftazidime , céfépime sur la gélose Mueller- Hinton, la distance entre les disques est comprise entre 15 et 30mm de centre à centre .La disposition des  $\beta$ -lactamines dans le DD-test est présentée dans la figure N°01.

La présence d'une BLSE se traduit par l'apparition d'une synergie entre les disques d'oxymino- $\beta$ -lactamine et le disque contenant l'amoxicilline et l'acide clavulanique. Cette synergie se matérialise par une image en forme de bouchon de champagne (effet potentialisateur de l'acide clavulanique).

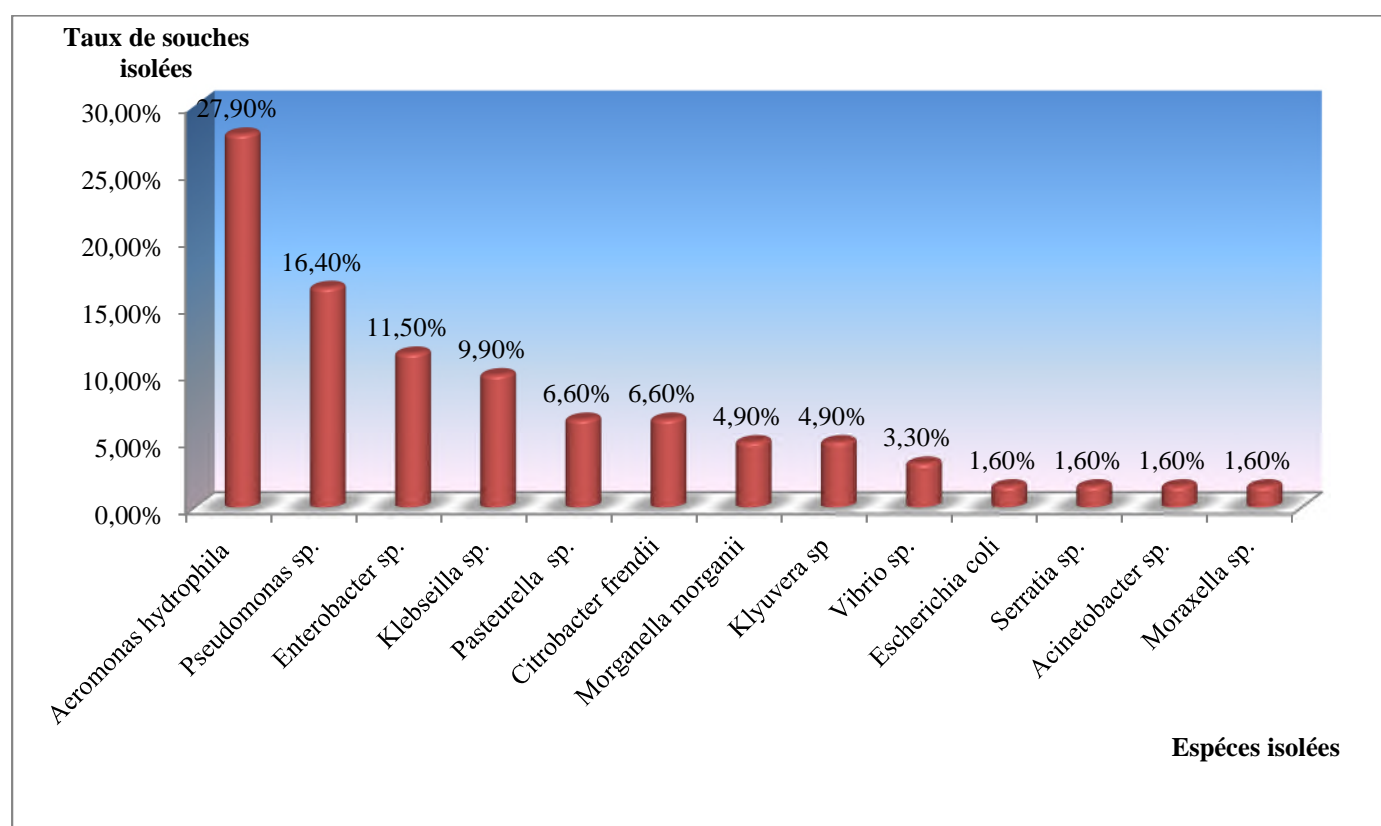


**Figure 01:** Disposition des disques de  $\beta$ -lactamines dans le DD-test.

### I. Isolement et identification des souches bactériennes

Au cours de cette étude deux prélèvements d'eaux usées sont effectués. Au total **61** souches de bacilles à Gram négatif sont isolées et identifiées, dont **34** souches isolées au niveau de l'hôpital de Sidi-Aich et **27** au niveau de l'hôpital d'Akbou.

L'identification des souches par galeries API 20E pour les deux prélèvements a permis d'identifier différentes espèces appartenant aux bacilles à Gram négatif. La figure suivante montre le taux d'espèces isolées à partir des effluents des deux hôpitaux. Les résultats d'identification par galerie API20E sont donnés en Annexe V



**Figure 2:** Fréquence d'espèces isolées à partir des effluents des deux hôpitaux (Akbou et Sidi Aich)

Différentes espèces de bacilles à Gram négatif sont isolées à partir des deux prélèvements d'eaux usées analysées.

**61** souches bacilles à Gram négatif sont isolées et identifiées au niveau des deux hôpitaux parmi lesquelles l'espèce *Aeromonas hydrophila* est la plus fréquemment isolée avec un taux de **27,9%** souches, suivie de, *Pseudomonas sp.* (**16,4%**).

## II. Sensibilité des souches aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme des 61 souches bacilles à Gram négatif ont été déterminés. Ces souches sont testées vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques :  $\beta$ -lactamines (CTX, CAZ, FEP, ATM, FOX et IMP), les Fluoroquinolones (CIP), Aminoside (TOB), Sulfamides-Trimethoprine (SXT). Les résultats d'antibiogramme des souches isolées à partir des effluents des deux hôpitaux sont représentés dans les tableaux ci-dessous

**Tableau II:** Représentation des diamètres de l'antibiogramme des souches issues de l'hôpital d'Akbou

Code	Espèces	CAZ	CTX	FEP	ATM	FOX	IMP	TOB	CIP	SXT	Image de Synergie
A1	<i>Pseudomonas sp.</i>	6	15	10	12	11	40	28	32	6	AB
A2	<i>Pasteurella sp.</i>	10	18	20	10	23	31	22	23	6	PR
A3	<i>Pasteurrella sp.</i>	10	16	38	34	14	38	36	26	18	PR
A4	<i>Pasteurrella sp.</i>	6	6	11	16	22	38	24	48	40	PR
A5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	10	12	34	22	26	34	27	40	28	PR
A6	<i>Pseudomonas sp.</i>	18	18	20	28	38	38	26	31	25	PR
A7	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	14	34	24	22	34	34	37	20	PR
A8	<i>Enterobacter sp.</i>	6	6	26	6	28	22	23	30	32	PR
A9	<i>Enterobacter sp.</i>	6	26	26	8	6	23	38	44	24	PR
A10	<i>Serratia sp.</i>	6	6	32	18	10	36	22	36	32	AB
A11	<i>Vibrio sp.</i>	36	16	26	28	32	24	20	33	6	PR
A12	<i>Klebsiella sp.</i>	6	13	32	8	6	23	30	37	32	AB
A13	<i>Klebsiella sp.</i>	22	24	32	24	20	34	30	24	23	PR
A14	<i>Klebsiella sp.</i>	28	20	36	30	16	36	44	38	30	AB
A15	<i>Pasteurella sp.</i>	22	14	40	30	6	40	36	30	27	AB

## Résultats

<b>A16</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	14	8	28	22	18	30	32	38	6	<b>PR</b>
<b>A17</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	20	6	6	34	36	30	31	6	<b>PR</b>
<b>A18</b>	<i>Moraxella sp.</i>	22	24	32	32	26	36	30	27	28	<b>AB</b>
<b>A19</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	22	22	32	30	12	20	22	24	30	<b>PR</b>
<b>A20</b>	<i>Klebsiella sp</i>	6	6	30	12	11	26	30	26	38	<b>AB</b>
<b>A21</b>	<i>Citrobacter freundii</i>	6	6	30	10	9	24	19	26	25	<b>AB</b>
<b>A22</b>	<i>Pseudomonas sp.</i>	6	14	6	9	12	32	30	34	6	<b>AB</b>
<b>A23</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	6	11	28	9	6	25	32	35	35	<b>AB</b>
<b>A24</b>	<i>Citrobacter freundii</i>	22	12	34	28	6	24	19	15	32	<b>PR</b>
<b>A25</b>	<i>Klyuvera sp.</i>	32	28	28	20	30	30	27	42	22	<b>AB</b>
<b>A26</b>	<i>Klyuvera sp.</i>	26	31	24	22	38	36	26	48	22	<b>AB</b>
<b>A27</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	20	6	6	34	36	21	28	30	<b>PR</b>

**Tableau III:** Représentation des diamètres de l'antibiogramme des souches issues de l'hôpital de Sidi Aich

Code	Espèces	CAZ	CTX	FEP	ATM	FOX	IMP	TOB	CIP	SXT	Image de Synergie
<b>S1</b>	<i>Klebseilla sp</i>	6	6	25	6	6	28	32	28	32	<b>AB</b>
<b>S2</b>	<i>Enterobacter sp</i>	6	6	9	11	6	27	13	23	6	<b>PR</b>
<b>S3</b>	<i>Pseudomonas sp.</i>	6	6	9	6	11	32	12	22	17	<b>PR</b>
<b>S4</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	7	34	13	6	32	22	28	30	<b>AB</b>
<b>S5</b>	<i>Pseudomonas sp.</i>	30	24	32	37	20	34	44	36	6	<b>AB</b>
<b>S6</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	24	26	32	34	12	34	32	50	26	<b>AB</b>
<b>S7</b>	<i>Pseudomonas</i>	5	26	30	28	6	34	34	36	6	<b>PR</b>

## Résultats

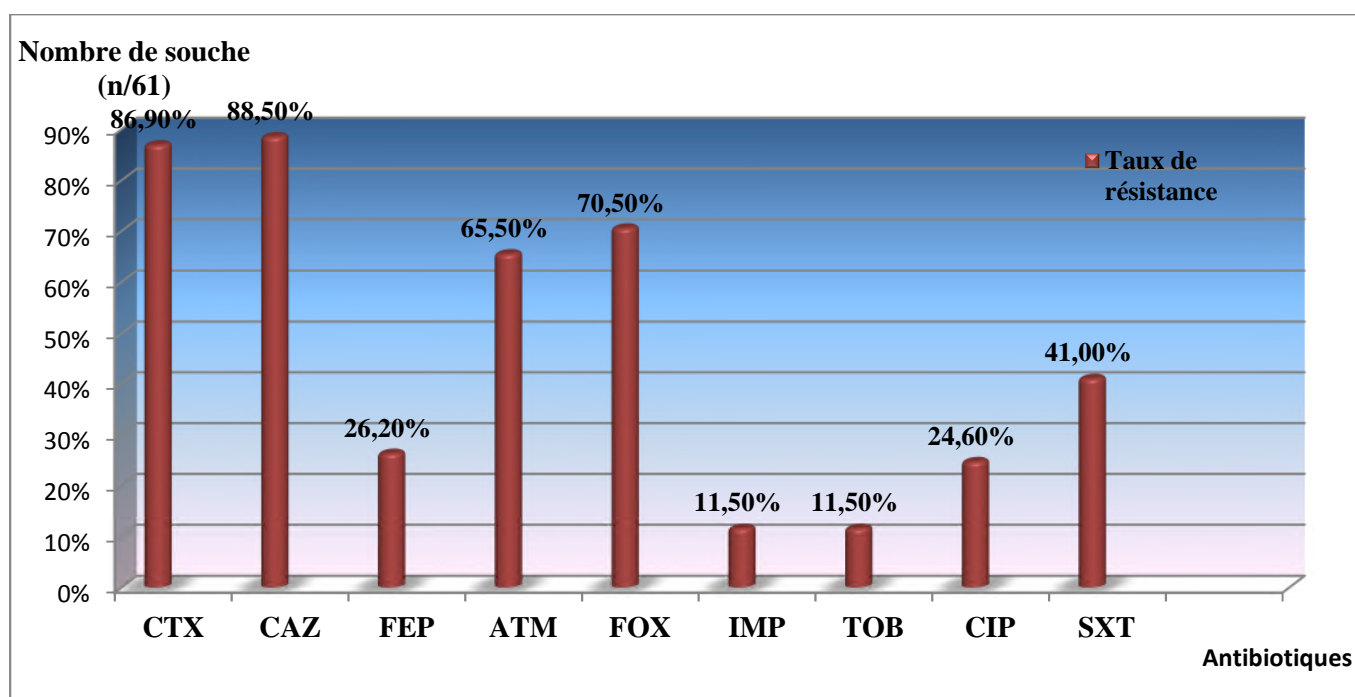
	<i>sp.</i>										
<b>S8</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	15	13	32	17	17	33	28	40	26	<b>PR</b>
<b>S9</b>	<i>Klebsella sp</i>	25	27	29	28	26	30	27	38	6	<b>PR</b>
<b>S10</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	32	20	30	34	24	36	38	44	30	<b>PR</b>
<b>S11</b>	<i>Morganella morgani</i>	24	22	28	30	14	24	20	26	6	<b>PR</b>
<b>S12</b>	<i>Morganella morgani</i>	24	16	27	28	20	24	22	28	6	<b>PR</b>
<b>S13</b>	<i>Citrobacter freundii</i>	23	28	37	25	6	24	27	30	31	<b>AB</b>
<b>S14</b>	<i>Enterobacter sp</i>	24	23	40	25	11	27	33	31	36	<b>AB</b>
<b>S15</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	25	26	35	26	6	44	30	33	18	<b>AB</b>
<b>S16</b>	<i>Citrobacter freundii</i>	14	6	16	18	10	28	13	12	6	<b>PR</b>
<b>S17</b>	<i>Enterobacter sp</i>	6	10	17	16	6	28	13	19,5	6	<b>PR</b>
<b>S18</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	16	13	35	20	21	32	25	37	21	<b>PR</b>
<b>S19</b>	<i>Pseudomonas sp.</i>	17	18	18	15	15	34	32	46	23	<b>PR</b>
<b>S20</b>	<i>Pseudomonas sp.</i>	17	14	18	21	23	36	50	38	18	<b>PR</b>
<b>S21</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	16	15	33	20	6	32	32	50	22	<b>PR</b>
<b>S22</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	10	9	30	16	18	29	24	40	24	<b>PR</b>
<b>S23</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	9	12	30	20	16	28	30	29	28	<b>PR</b>
<b>S24</b>	<i>Klyuvera sp.</i>	14	10	21	18	31	44	20	31	6	<b>PR</b>
<b>S25</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	8	25	8	6	25	35	28	6	<b>PR</b>
<b>S26</b>	<i>Morganella morgani</i>	15	14	32	17	15	16	26	21	6	<b>AB</b>
<b>S27</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	14	13	32	17	21	28	31	29	6	<b>PR</b>
<b>S28</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	28	15	29	18	20	34	40	32	6	<b>PR</b>
<b>S29</b>	<i>Pseudomonas sp.</i>	6	21	14	6	6	23	6	6	6	<b>PR</b>
<b>S30</b>	<i>Vibrio sp.</i>	15	17	34	16	14	22	34	22	6	<b>AB</b>
<b>S31</b>	<i>E.coli</i>	9	15	26	10	6	23	25	10	29	<b>AB</b>
<b>S32</b>	<i>Enterobacter sp</i>	16	8	22	17	6	36	13	17	6	<b>PR</b>

## Résultats

S33	<i>Klebseilla sp</i>	6	6	24	6	6	25	28	25	26	AB
S34	<i>Acinetobacter sp.</i>	6	6	6	6	6	6	12	7	9	AB

### III. Antibiorésistance des souches

Les taux de résistances des souches vis-à-vis les différents antibiotiques est représenté dans la figure N°3



**Figure 3 :** Représentation des taux de résistances des souches isolées vis-à-vis les différents antibiotiques

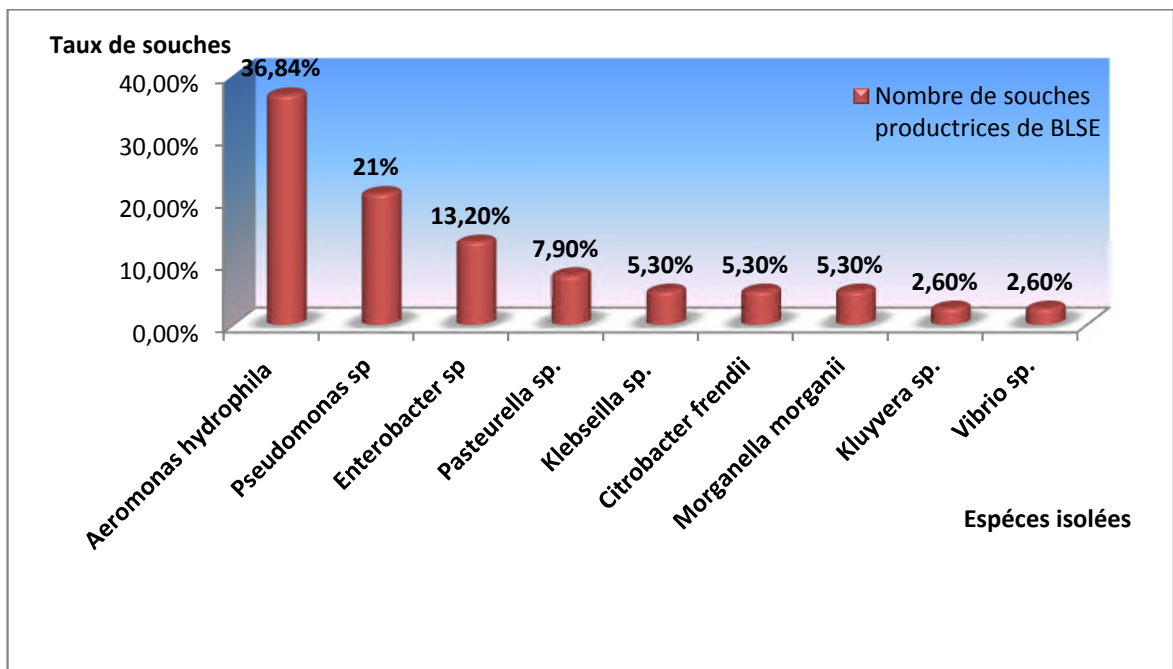
#### ❖ Résultats des profils de résistance des souches isolées

Sur l'ensemble des souches testées, nous avons enregistré des taux élevés de résistances vis-à-vis les C3G dont, **86,9%** des souches sont résistantes au CTX et **88,5%** sont résistantes à la CAZ, aussi pour la céfoxitine avec un pourcentage de **70,5%** et **65,6%** pour l'ATM ; L'activité de la SXT sur les souches isolées est assez importante, seulement **41%** souches sont résistantes, alors que pour la FEP elle présente un taux de **26,2%** et **24,6%** pour la CIP. Des résistances remarquables à de faibles pourcentages (**11,5%**) pour la et l'IMP dont les espèces présentent cette résistance sont (*Pseudomonas sp.*, *Morganella morganii* et *Acinetobacter sp.*)



#### IV. Détection phénotypique des BLSE

En plus de la résistance au CTX et au CAZ ; les résultats du DD-test ont montré que (39/61 ; 63,9%) souches isolées dont (17/29 ; 58,6%) souches issues de l'hôpital d'Akbou et (22/34 ; 64,7%) souches de l'hôpital de Sidi Aich, présentent une image de synergie entre la CAZ, AMC et le CTX indiquant la présence probable d'une BLSE. Le nombre de souches productrices de BLSE est représenté dans la figure ci-dessous



**Figure 4 :** Représentation des taux de souches productrices de BLSE par espèces

*Aeromonas hydrophila* est l'espèce la plus fréquemment productrice de BLSE avec un taux de (14/61, 36,8%) suivie de *Pseudomonas sp.* de (7/61, 21%) et d'*Enterobacter sp.* (5/61 13,2%)

Nous assistons depuis des années à la diffusion des bactéries multi-résistantes non seulement en milieu hospitalier mais aussi en milieu communautaire (Pitout et Laupland et al., 2008 ; Arpin et al., 2009). Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, où des entérobactéries des *Pseudomonas* et des *Acinetobacter*, sont souvent responsables d'infections dues à des souches multi-résistantes (Soussy et al., 2007).

La présence des bactéries résistantes et de gène de résistance dans les effluents hospitaliers peut constituer un danger pour la santé publique puisqu'elle constitue un facteur de risque pour leurs diffusions. Le transfert de gènes de résistance entre ces bactéries et les bactéries de l'environnement peut se faire via un transfert horizontal (Davidson, 1999 ; Kummerer et al., 2004 ; Diwan et al., 2010).

Plusieurs études sont démontrées que les effluents constituent un environnement très sélectif et contribuent à un taux élevé de bactéries multi-résistantes déchargées dans l'environnement naturel Prado et al. 2008 ; Diab et al., 2008 ; Yang et al., 2009 ; Fuentefria et al. 2008 ; Korzeniewska et Harnisz 2013.

Au cours de notre étude, Nous avons noté une diversité au niveau des espèces isolées des effluents. Nous avons enregistré une prédominance des souches d'Entérobactéries (43%) suivie des souches d'*Aeromonas* (27,9%), des souches de *Pseudomonas* (16,4%) et de *Enterobacter* (11,5%). Nos résultats sont semblables à ceux marquée par Renata et al. (2013) qui rapportent un taux de (61.2%) d'entérobactéries, suivie de (18.6%) des souches d'*Aeromonas* ; et avec les autres études telles que celles faites par Elmanama et al. (2006) ; Diab et al. (2008) en Arabie Saoudite ; Vieira et al. (2011) au Brésil et Korzeniewska et al. (2013) au Pologne.

Les travaux de Korzeniewska et al. (2013) ; Harnisz. (2013), Vieira et al. 2011., Chagas et al., 2011 ; Figueira et al., 2011., Diab et al ; Fuentefria et al., (2008) ont démontré une présence importante de germes multi résistants aux antibiotiques au niveaux des effluents hospitalières.

L'antibiorésistance obtenue au cours de notre étude pour les deux prélèvements a révélée que la plus part des souches étudiées ont une résistance importante vis-à-vis les antibiotiques testés avec des taux de 88,5% (CAZ), 86,9%(CTX), 70,5%(FOX), 65,6%(ATM), 41% (SXT), 26,2% (FEP), 24,6%(CIP), 11,5% (TOB) et 11,5% (IMP). La

majorité des souches isolées sont sensibles à l'imipenème à l'exception de trois souches (*Pseudomonas sp.*, *Morganella morganii*, *Acinetobacter sp.*) isolées au niveau de l'hôpital de Sidi Aich. Ces résultats sont plus élevés que ceux obtenus par Elmanama et al. (2006) ; Qui rapportent des taux de 14,0% (CTX), 8,3%(CAZ), 36,4%(TOB)10,7%(SXT).

La prévalence des souches productrices de BLSE est de 63,93 % avec la prédominance des souches d'*Aeromonas* 36,84% suivi de *Pseudomonas* 21%.

Wang et al. 2008 rapporte que les souches d'*E. coli* 31.3% et *Klebsiella sp.* 40.6% sont les espèces contenant un grand nombre de souches productrices de BLSE. Yang et al. 2009 ont enregistré qu'*E.coli* et *Enterobacter sp.* sont les espèces les plus fréquemment productrices de BLSE avec des taux de 32.9% et 19.8% respectivement. Récemment l'étude faite par Korzeniewska et Harnisz. 2013 au Pologne a mis en évidence une prépondérance de souches *E. coli* et de *Citrobacter freundii* productrice de BLSE.

Dans notre étude *Aeromonas hydrophila* est l'espèce la plus fréquemment isolée des deux prélèvements effectués avec un nombre de 17 dont 14 *Aeromonas hydrophila*, isolées dans ce travail, présentent des images de synergie qui indiquent probablement une production de BLSE. La souche S14 résiste probablement aux C3G par l'hyperproduction de son Amp C chromosomique. Le nombre de souches d'*Aeromonas hydrophila* isolées dans la présente étude est plus important que celui de Vieira et al., 2011 qui a trouvé cette espèce seulement en nombre de deux. Cette souche a été rapportée par Renata et al en Brésil en 2013 à un taux de 18,6% d'*Aeromonas hydrophila*. 50% de ces souches produisent une BLSE de type *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase (KPC).

Dans notre étude 9 souches de *Pseudomonas sp* ont été isolées dont 7 produisent probablement des BLSE de type CTX-M-15. La S3 présente probablement une résistance aux C3G par une hyperproduction de son Amp C chromosomique. Une seule souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée présente une BLSE probablement de type CTX-M. La souche S29 présente une résistance à l'IMP. Cette résistance pouvant être due probablement à la production d'une métallo- $\beta$ -lactamase de classe B ou de carbapénémase de classe A ou D. comme elle peut être due à une imperméabilité membranaire.

Les souches d'*Enterobacter* isolées des deux prélèvements sont en nombre de 7 dont 5 sont probablement productrice d'une BLSE ; 4.souche produisent une BLSE de type CTX-M-15. La souche S2 produit probablement une BLSE autre que CTX-M (SHV ou TEM) .La souche S3 résiste probablement aux C3G par l'hyperproduction de son AmpC chromosomique. L'étude fait par Korzeniewska et Harnisz ,2013 en Pologne à rapporté un taux de 4% des souches d'*Enterobacter* productrice de BLSE de type (CTX-M-1, SHV- 2 et TEM-24).Renata et al en Brésil en 2013 à démontré la présence d'une BLSE de type KPC chez cette espèce.

*Pasteurella* est isolée en nombre de 4 dont 3/4 de ces souches sont productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE) dont les souches (A2 et A4) sont probablement productrices de BLSE de type CTX-M-15 et la souche A3 produit une BLSE autre que CTX - M.

05 souche de *Klebsiella* ont été isolées au cours de notre étude dont la S9 est la seule souche qui produit probablement une BLSE de type SHV ou TEM. Les souches (S1, S33 et A12) possèdent une résistance vis-à-vis des C3G et de la céfoxitine et ne produisent pas une image de synergie .la résistance des ces souches est due probablement à la production d'une AmpC plasmidique. Korzeniewska et Harnisz. 2013 rapportent 8% souches de *Klebsiella* productrice de BLSE de type TEM-48, SHV-2, CTX-M-3 et CTX-M-9

Le nombre de souches *Citrobacter freundii* isolées est de nombre de 4 dont 2 sont probablement productrice de BLSE dont la S16 est probablement de type CTX-M-15 et la A24 produit une BLSE autre que CTX-M. Les deux autres souches (A21 et SA3) ont une AmpC chromosomique hyperproduite. *Citrobacter freundii* a été également isolé lors d'une étude effectué par Korzeniewska et Harnisz ,2013 dans l'aquelle les BLSE produites sont de type (CTX-M-3, CTX-M-9, SHV-2, SHV-12).

Durant ce travail, l'espèce *Morganella morganii* est uniquement isolées au nombre de trois .Deux souches (S11 et S12) présentent des images de synergie qui indiquent que ces souches produisent probablement des BLSE de type CTX-M autre que CTX-M-15,16 et 27. La souche S26 présente une résistance par une hyperproduction de céphalosporinase .La résistance à l'IMP chez cette souche peut être due probablement à la production de MBL ou de carbapénémase de class A ou D.

## Discussions

---

Une seule souche de *Serratia* est isolée ; La souche A10 ne présente pas de synergie elle est résistante probablement aux C3G par une AmpC chromosomique hyperproduite. Ce genre a également été retrouvé dans les études menés par Diab et *al.* (2008) et Vieira et *al.* (2011). Il a été également montré par Stock et *al.* (2003) que toutes les espèces de *Serratia* ont exprimé une AmpC chromosomique hyperproduite.

La souche d'*E coli* isolé au cours de notre étude présente une résistance au C3G et à la FOX .Cette résistance serait probablement liée à la production d'une AmpC plasmidique ou à l'hyperexpression de sa céphalosporinase chromosomique. une étude faite par Korzeniewska et al en 2013 sur la résistance de *E coli* isolé des effluents hospitalier aux antibiotiques a rapporter une prévalence de 76.5% souche productrice de BLSE de type TEM, CTX, OXA et SHV .

La souche d'*Acinetobacter sp* isolée (S34) est résistante probablement aux C3G par une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique. La résistance à l'IMP peut être due à une résistance enzymatique (enzyme OXA ou carbapénemase) .Cette souche présente une résistance vis-à-vis de toutes les antibiotiques testée. Cela est également rapporter par Vieira et *al.*, 2010 chez deux souches d'*Acinetobacter*.

## Conclusion

---

Au cours de cette étude qui s'est déroulée au laboratoire de Microbiologie de l'université de Abderahmane MIRA de Béjaia, deux prélèvements des eaux usées ont été collectés au niveau de deux hôpitaux de deux régions distinctes de cette Wilaya (l'Etablissement Populaire Hospitalier (E.P.H) « Akloul Ali » d'Akbou ; et l'hôpital « Rachid Belhousine » de Sidi Aich) et nous avons abouti aux résultats suivants :

- ❖ 61 souches au total de Bacille à Gram négatif résistants aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération ont été isolées et identifiées;
- ❖ 34/61 souches ont été isolées de l'hôpital de Sidi Aich et 27 de l'hôpital d'Akbou ;
- ❖ Les *Enterobacteriaceae* est la famille la prédominante avec un taux de (42,62% ; 26/61) ;
- ❖ (53/61 ; 86,88%) des souches isolées sont multirésistants dont 22/27(81,48%) issues des effluents de l'hôpital d'Akbou et 31/34 (91,17%) de l'hôpital de Sidi Aich ;
- ❖ (63,93 % ; 39/61) des souches produisant des BLSE (avec la prédominance des souches d'*Aeromonas* avec un taux de 36,84% (14/39) suivi de *Pseudomonas* 21%(7/39) et la plupart sont de type CTX-M.

Les résultats de cette étude démontrent la prévalence des bacilles à Gram négatif dans les effluents hospitaliers surtout les entérobactéries et que le mécanisme de résistance majoritaire est la production de BLSE, mais cela n'exclue pas l'implication des autres mécanismes.

Ces résultats confirment l'importance des effluents hospitaliers dans la dissémination des bacilles à Gram négatif multi-résistants dans la nature, et la forte probabilité d'acquisition de gènes de résistances par les souches autochtones de l'environnement. De plus, les antibiotiques contaminants peuvent perturber l'écologie microbienne, augmenter la prolifération des bactéries résistantes aux antibiotiques, et constituer une menace pour la santé humaine.

En Algérie et comme dans la plupart des pays en voie de développement, les rejets des effluents hospitaliers se fait via les réseaux des eaux usées urbaines, sans traitement préalable. À l'issue de cette étude nous pouvons dire que des stations de traitements des effluents hospitaliers doivent être installées pour au moins pouvoir espérer diminuer leur charge en microorganismes résistants et en médicaments.

## Conclusion

---

Cette étude évidemment reste préliminaire et elle doit être élargie sur plusieurs axes et constitue un projet de recherche qui pourra fédérer toutes les actions de recherche réalisées autour des phénomènes de résistance dans les effluents hospitaliers de la wilaya de Bejaia.

Dans une démarche complémentaire il est nécessaire de :

- Elargir l'étude sur tout la flore environnementale pour inclure les bactéries Gram positif et la flore fongique.
- Effectuer une identification des souches isolées, par des techniques sérologiques et moléculaires ;
- Caractériser les BLSE produites par PCR ;
- Estimer le taux des résidus d'antibiotiques se trouvant dans ces eaux ;
- Etudier l'impact de ces effluent sur les eaux de mer;
- Effectuer une étude à l'échelle nationale pour déterminer l'impact global de rejets des effluents hospitaliers dans l'environnement.

## Références bibliographiques

### A

**Akiyama T et Savin MC. (2010).** Populations of antibiotic-resistant coliform bacteria change rapidly in a wastewater effluent dominated stream, *Science of the Total Environment*. In press. doi:10.1016

**Andremont A. (2002).** Pression de sélection antibiotique, flores commensales et évolution de la résistance. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*. **15** (3), 160-165.

**Arpin C, Quentin C et Grobost F .(2009).** Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. *J Antimicrob Chemother*.63,1205-14.

### B

**Bolla J M , Alibert-Franco S , Handzlik J , Chevalier J , Mahamoud A , Boyer G , Kiec-Kononowicz K. et Pages J M. (2011).** Strategies for bypassing the membrane barrier in multidrug resistant Gram-negative bacteria. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. **585**, 1682-1690.

**Brown K D, Kulis J, Thomson B, Chapman T H et Mawhinney D B.(2006).** Occurrence of antibiotics in hospital ,residential, and dairy effluent , municipal wastewater, and the Rio grande in New Mexico.*Science of the Total Environment* . **366**, 722-783.

**Bush K, Jacoby G A. (2010).** Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. *American Society for Microbiology*. Bloomington.

### C

**Castiglioni S, Pomati F, Miller K, Burnsb B P, Zuccato E, Calmari D et Neilan B A.(2008).** Novel homologus of the multiple resistance regulator marA in antibiotic-contaminated environments .*Water Research*.42,4271-4280.



**Cavallo J D , Fabre R, Jehl F, Rapp C, et Garrabé E.(2004).** Bêtalactamines .Encyclopédie Médico-chirurgicale-maladies infectieuses. **73**, 129- 202.

**Chagas T P G , Seki L M , Cury J C, Oliveira J A L , Dávila A M R, Silva DM et Asensi M D (2011) .** Multiresistance, beta-lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro. *Braz. J. Appl. Microbiol.*111, 572e581.

**Chang X , Meyer M T ,Lui X ,Zhao Q, Chen H, Chen J, Qui Z ,Yang L ,Cao J et Shu .(2010).**Determination of antibiotics in sewage From hospitals ,nurse and slaughter house ,wastewater treatment plant and source water in chongqing region of Gorge Reservoir in China ,*environmental Pollution* .158,1444-1450.

**Cattoir V. (2008).**Les nouvelles bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE).Pathologie infectieuse en réanimation. Mise au point en anesthésie réanimation(MAPAR). Paris. 10p.

**Chitnis V, Chitnis S, Vaidya K, R, Ravikant S, Patil S et Chitnis D S. (2003).** Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. *Water Research.*38, 441-447.

**Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).** Communiqué 2010.

## D

**Davison J. (1999).** Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid.* **42**,73-91.

**Diab M , Al-Turk A T ,Ibrahim K, Al-Zhrany K D. (2008).** Tracing of Gram-negative antibiotic-resistant bacteria in hospital final effluent at Al-Madinah Al- Mounwarah. *Journal of Taibah University for Science.***12**, 23-34.

**Diwan V, Tamhankar A J , Khandal R k, Sen S, Aggarwal M, Marothi Y, Iyer R V,Sundblad-tonderski K et Stalby-lundborg C. (2010).** Antibiotics and antibiotic-resistant bacteria in waters associated with a hospital in Ujjain, India. *BioMed central journal public health.* 414 (10), 2-8.

## E

**Elmanama A, Elkichaoui A y et Mai Mohsin M.(2006).**Contribution of hospital wastewater to the spread of Antibiotic Resistance in comparison to Non-health institution . Journal of al aqsa University.10, 108-121.

**Essack S Y .(2001).**The Development of b-lactam antibiotics in response to the Evolution of b-lactamases. Pharmaceutical research.10, 1391-1399.

## F

**Figueira V, Serra, E, Manaia, C M .( 2011).** Differential patterns of antimicrobial resistance in population subsets of Escherichia coli isolated from waste- and surface waters. Science. Total Environment. 409, 1017e1023

**Focazio M J ,Kolpin K K ,furlong E F ,Meyer M T , Zaugg S D , Barber L B et Thurman M E.(2008).**A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States Untreated drinking water source science of the total Environment .402,201-255

**Fuentefria D B , Ferreira A E et Corção G. (2011).** Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: Are they genetically related? Journal of Environmental Management. 92, 250-255.

## G

**Giger W, Alder A C , Golet E M , Kohler H P E , McArdell C S , Molnar E , Siegrist H et Suter M J F. (2003).** Occurrence and Fate of Antibiotics as Trace Contaminants in Wastewaters, Sewage Sludges, and Surface Waters. *Environmental analysis, Chimia.* 57 (9), 485-491.

**Gómez M J , Petrovic M , Fernández Alba A R et Barcelô D. (2006).** Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. Journal of Chromatography. 1114, 224-233.

**Guardabassi L , Petresen A , Olsen J E et Dalsgaard A. (1998).** Antibiotic resistance in *Acinetobacter spp.* isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**, 3499-3509.

**Guessennd , N , Bremont ,S , Gbonon ,V , Kacou-NDouba, A, Ekaza ,E , Lambert ,T , Dosso, M et Courvalin ,P . (2008)** .Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie* 56, 439–446)

## H

**Harnisz M. (2013).** Total resistance of native bacteria as an indicator of changes in the water environment. *Environment Pollution* . **174**, 85-92.

## J

**Jacobsen L , Sandvang D , Hansen L H , Bagger-Skjot L , Westh H , Jorgensen C , Hansen D S , Pedersen B M , Monnet D L , Frimodt-Moller N , Sorensen S J et Hammerum A M. (2008).** Characterisation, dissemination and persistence of gentamicin resistant *Escherichia coli* from a Danish university hospital to the waste water environment. *Environment International*. **34**, 108-115.

**Jarlier V, Nicolas M H , Founier G , Philippon A. (1988).** Extended-broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of infection Diseases*. **10**, 867-878.

**Jean J , Perrodin Y , Pivot C , Trepo D , Perraud , M , Droguet J , Tissot-Guerraz, F , Locher, F.( 2012).** Identification and prioritization of bioaccumulable pharmaceutical substances discharged in hospital effluents. *J. Environ. Manage.* **103**, 113e121.

## K

**Korzeniewska E, Anna Korzeniewska, Harnisz M. (2013)a.** Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **91** 96–102.

**Korzeniewska E, Harnisz M. (2013)b.** Beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in hospital effluents. *Journal of Environmental Management* **123** 1e7

**Kümmerer K. (2003).** Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **3**, 5-7.

**Kümmerer K. (2004).** Résistance in the environnement. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **54**, 311-320.

## L

**Laroche E ,Petit F ,Fournier M et Pawlak B. (2010).**Transport of antibiotic –resistant *Escherichia coli* in public rural karst water supply .*Journal of Hydrology* .**392**,12-21.

**Luczkiewicz A , Jankowska K, Fudala-Ksiazek S et Olannczuk-Neyman K . (2010).** Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant.*water research*.**44**, 5089-5097.

## M

**Malat F. (2009).**Lentilles de contact rapport SFO .Ed : Masson .Paris.1052p.

**Martinez J L . (2009).** Environnemental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants . *Environnement pollution*. 157 ,2893-2902.

## P

**Pitout J D D , Laupland, K B .(2008).** Extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect. Dis.* 8, 159e166.

**Prado T, Pereira, W C , Silva, D M , Seki L M , Carvalho A P , Asensi M D. (2008 ).** Detection of extended-spectrum b-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in effluents and sludge of a hospital sewage treatment plant. *Lett. Appl. Microbiol.* 46, 136e141.

## R

**Renata C P, Juliana P C, Eloiza H C, Adriana G N, Fernanda V B P, Diego M A ,Luiz J et Ana C G .(2013 ).**The route of antimicrobial resistance from the hospital effluent to the environment: focus on the occurrence of KPC-producing *Aeromonas* spp. and Enterobacteriaceae in sewage. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **76** 80–85.

**Richardson B J , Lam, P K S , Martin, M . (2005).** Emerging chemicals of concern: pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Asia, with particular reference to Southern China. *Mar. Pollut. Bull.* **50**, 913e920.

## S

**Sanders P. (2001).** Mécanisme responsable for cross-resistance and dicitotomons resistance among the quinolones. *Clinical Infection*. **32**, 1-8.

**Soussy C J. (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. In Soussy C.J. Les infections urinaires : Monographies en urologie. pp. 21-46.

**Stock I , Burak S , Sherwood KJ , Gruger T , Wiedemann B. (2003).** Natural antimicrobial susceptibilities of strains of 'unusual' *Serratia* species: *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. odorifera*, *S. plymuthica* and *S. rubidaea*. *J Antimicrob Chemother.* **51**:865–85

**Sun K , Wang H I ,Zhang M , Xiao Z Z et Sun L . (2009 ).** Genetic mechanisms of multi-antimicrobial resistance in a pathogenic *Edwardsiella tarda* strains .*Aquaculture* .**289**,143-139.

## T

**Tao R ,Ying G G ,Su H C ,Zhoo H W et Sidhu J P S .( 2010).** Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from the pearl rivers in south China .*Environmental Pollution* .**158**,2101-2109.

## V

**Vieira C D , Roque de Carvalho M A , Amorim de Menezes Cussioli N, Alvarez-Leite M E , Gonçalves dos Santos S , Gomes R M F , Silva M X , Nicoli J R et Farias L.M. (2011).** Count, identification and antimicrobial susceptibility of bacteria recovered from dental solid waste in Brazil. *Waste Management.* **31**, 1327-1332.

**Vodovara D , Marcadéb G, Raskineb L , Malissina I, et Mégarbane B. (2012).** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de médecine interne xxx xxx–xxx*

## W

**Wang, C, Dang, H, Ding, Y, 2008.** Incidence of diverse integrons and b-lactamase genes in environmental *Enterobacteriaceae* isolates from Jiaozhou Bay, China *World J. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 2889e2896.

**Watkinson A J ,Murby ,Kolmpin D W et Costanzo S D. (2009)** .The occurrence of antibiotics in an urban watershed :From wastewater to drinking water ,Science of the Total Environment .407,2711-272

**Wax R-G , Lewis K , Salyers A A , Taber H. (2008).** Bacterial resistance to antimicrobials. Edition CRC press. Second edition. London.446p.

**Wright G D. (2005).** Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and Modification.Advanced drug delivery reviews. **57**, 1451- 1470.

#### **Y**

**Yang Z T , Lecuit M , Suarez F, Carbonnelle E , Viard J P , Dupont B , Buzyn, A et Lortholary O.(2006).** Morganella morganii pericarditis 3 years after allogenic bone marrow transplantation for mantle cell lymphoma. J. Infect. **53**, 223–225.

#### **Z**

**Zhou L J , Ying G G ,Zhao J L , Yang J F, Wang L ,Yang B et Liu S . (2010).**Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the yellow river,Hai River and Lia River in northern China .Environment Pollution .**159**,1877-1885 .

**Zuccato E , Castiglioni S , Bagnati R , Melis M et Fanelli R .(2010).**Source ,occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment . Hazardance Materials.**179**,1042-1048.

# *Annexe I*

## Composition des milieux de culture (pour 1 litre d'eau distillée)

### Gélose Mueller Hinton

✓ Infusion de viande de bœuf.....	300g
✓ Hydrolysate de caséines .....	17,5g
✓ Amidon.....	1,5g
✓ Agar.....	16g

**PH=7,4**

### Gélose Mac conkey

✓ Peptone.....	20g
✓ Lactose.....	10g
✓ Sels biliaires.....	0,05g
✓ Chlorure de sodium.....	0,05g
✓ Rouge neutre.....	0,075mg
✓ Agar.....	12g

**PH=7,4**

### Palat count Agar

✓ Infusion de viande de bœuf.....	5g
✓ Hydrolysate de caséines .....	2,5g
✓ Amidon.....	1,00g
✓ Agar.....	15,00g

PH=7

**Réactifs de Voges-Proskauer I et II**

❖ **VP I**

- ✓ Soude caustique (NaOH)

❖ **VP II**

- ✓ Alphanaphtol
- ✓ Alcool 95 C°

**Réactif de Kovacs**

Alcool amylique ou isoamylique .....	150 ml
Dimethyl-aminobenzaldehyde .....	10 g
Acide chlorhydrique concentré .....	50 ml

**Réactif de Tryptophane désaminase (TDA)**

Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$ .....	10ml
Eau distillée	



## Annexe

---

### Milieux de culture et réactifs utilisés

Milieux et réactifs	Utilisation
Gélose nutritive sélective (Mac-conkey)	Isolement et purification
Gélose nutritive non sélective (Plate count Agar)	Conservation des souches
Mueller Hinton	Antibiogramme standard et DD-test
Réactif de TDA	Identification par galerie API20E
Réactif de Kovacs	
Réactif de VP I et II	
Violet phéniqué (Nicole)	Coloration de gram
Liquide de Lugol (IKI)	
Fuchsine	
Thiosulfate de sodium	Neutralisation des détergents

*Annexe II***Liste des antibiotiques utilisés.**

<b>Antibiotiques</b>	<b>Abréviation</b>	<b>Charge de disque (µg)</b>	<b>famille</b>
Céfoxitine	<b>FOX</b>	30	C2G
Ceftazidime	<b>CAZ</b>	30	C3G
Aminoxicilline + Acide Clavulanique	<b>AMC</b>	30	Aminopinicillines
Cefotaxime	<b>CTX</b>	30	C3G
Cefépime	<b>FEP</b>	30	C4G
L' Aztreoname	<b>ATM</b>	30	Monobactame
Imipenème	<b>IPM</b>	10	Carbapénèmes
Ciprofloxacine	<b>CIP</b>	5	Fluoroquinolones
Gentamycine	<b>GM</b>	120	Aminoside
Tobramycine	<b>TM</b>	10	Aminoside
Triméthoprime- Sulfaméthoxazole	<b>SXT</b>	25	Sulfamides- Trimethoprime

## *Annexe III*


### Lecture de la galerie API20E (BioMérieux SA, 2010)

Tests	Composants Actifs	QTE	Réaction /Enzyme	Résultats	
				Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl- βD - galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
<b><u>ADH</u></b>	L-arginie	1,9	Arginie Dihydrolase	Jaune	Rouge-orangé
<b><u>LDC</u></b>	L-lysine	1,9	Lysine-DiCarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
<b><u>ODC</u></b>	L-Ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
<b><u>CIT</u></b>	Trisodium citrate	0,756	Utilisation de CITrate	Vert pâle-jaune	Bleu-Vert-bleu
<b><u>H2S</u></b>	Sodium thiosulfate	0,075	Production d'H2S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir-fin liseré
<b><u>URE</u></b>	Urée	0,76	UREase	Jaune	Rouge-orangé
<b>TDA</b>	L-tryptophane	0,38	Tryptophane Désaminase	TDA-immédiat	
				Jaune	Marron-rougeâtre
<b>IND</b>	L-tryptophane	0,19	Production d'indole	JAMES-immédiate	
				Incolore Vert pâle-jaune	Rose
<b><u>VP</u></b>	Sodium pyruvate	1,9	Production d'acétoine	VP1+VP2 /10min	
				Incolore-Rose pâle	Rose- rouge
<b><u>GEL</u></b>	Gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	1,9	Fermentation-oxydation (GLUcose)	Bleu- bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	D-mannitol	1,9	Fermentation-oxydation (MANnitol)	Bleu- bleu-vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	1,9	Fermentation-oxydation (INOsitol)	Bleu- bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol	1,9	Fermentation-oxydation (SOR-bitol)	Bleu- bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	1,9	Fermentation-oxydation (RHAmnose)	Bleu- bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	1,9	Fermentation-	Bleu- bleu-	Jaune

## Annexe


			oxydation (SACcharose)	vert	
<b>MEL</b>	D-melibiose	1,9	Fermentation- oxydation (MELibiose)	Bleu- bleu- vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	1,57	Fermentation- oxydation (AMYgdaline)	Bleu- bleu- vert	Jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	1,9	Fermentation- oxydation (ARAbinose)	Bleu- bleu- vert	Jaune

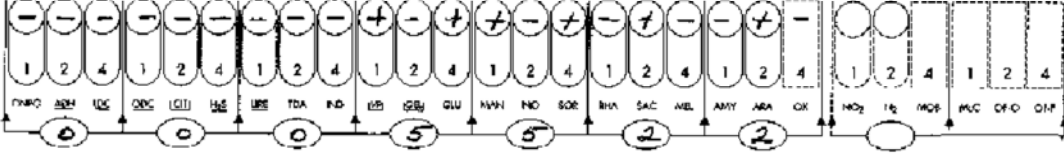
Fiche de lecture des résultats de galerie API 20E (bioMérieux SA,2010)



REF. : \_\_\_\_\_

Origine / Source / Herkunft / Origin / Prellivo : \_\_\_\_\_





(modèle en France / France / Italia)

Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests :

Ident. : Erwinia amylovora

# Annexe IV

## Résultats d'identification par galerie API 20<sup>E</sup> pour le prélèvement d'Akbou

Code	Identification	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
A1	<i>Pseudomonas sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A2	<i>Pasteurella sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
A3	<i>Pasteurella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-
A4	<i>Pasteurella sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-
A5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
A6	<i>Pseudomona sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A7	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
A8	<i>Enterobacter sp.</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A9	<i>Enterobacter sp.</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
A10	<i>Serratia sp.</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A11	<i>Vibrio sp.</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
A12	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+		+	-	+		+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A13	<i>Klebsiella sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
A14	<i>Klebseilla sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
A15	<i>Pasteurella sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
A16	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
A17	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-

<b>A18</b>	<b><i>Moraxella sp.</i></b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>A19</b>	<b><i>Aeromonas hydrophila</i></b>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-
<b>A20</b>	<b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>A21</b>	<b><i>Citrobacter freundii</i></b>	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<b>A22</b>	<b><i>Pseudomonas sp.</i></b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>A23</b>	<b><i>Enterobacter sp</i></b>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>A24</b>	<b><i>Citrobacter freundii</i></b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<b>A25</b>	<b><i>Kluyvera sp.</i></b>	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<b>A26</b>	<b><i>Kluyvera sp.</i></b>	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+
<b>A27</b>	<b><i>Aeromonas hydrophila</i></b>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+



## Annexe

---

S27	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
S28	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
S29	<i>Pseudomonas sp</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S30	<i>Vibrio sp</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S31	<i>E.coli</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
S32	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
S33	<i>Klebseilla oxytoca</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S34	<i>Acinetobacter sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+



## *Résumé*

L'objectif de ce travail est basé sur l'étude de la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif isolés des effluents de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia (Akbou et Sidi Aich). Un total de 8 échantillons à été analysé. L'identification des souches est obtenue par galeries API 20E. La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par antibiogramme standard. Au total 61 souches identifiées avec une prédominance des souches d'*Aeromonas hydrophila* (27,9%) suivis des souches de *Pseudomonas sp.* (16,4%). L'étude de la sensibilité des 61 souches isolées vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques a permis de déterminer leurs multi-résistances (86,88%). Et parmi ces souches, 38 (63,93%) sont productrices de BLSE.

Les effluents hospitaliers jouent un rôle très important dans la sélection, la propagation et la diffusion des souches multi-résistantes ainsi que dans le transfert de gènes de résistance dans l'environnement.

**Mots clés :** Bacilles à Gram négatif, Effluents hospitaliers, Antibiotiques, BLSE, Résistance.

## *Abstract*

The objective of this work is based on the study of antibiotics resistance of negative Gram bacilli isolated from two hospitals effluents from wilaya of Béjaia (Akbou and Sidi Aich ). 8 samples were analyzed. The identification of the strains is obtained by API20E gallerie. In al 61 strains identified with a prevalence of *Aeromonas hydrophila* strains (27, 9%) followed by *Pseudomonas sp.* with (16,4%) . The susceptibility testing towards various families of antibiotics made it possible to determine the multi-resistance (86, 88%) from the 61 strains isolated. Among these, 38 (63, 93%) are ESBL producers.

The hospital effluents play a very important part in the selection, propagation and the diffusion of the multi-resistant stocks like in the transfer of genes of resistance in the environment.

**Key words:** Gram negative bacilli, Hospital wastewater, Antibiotics, ESBL, Resistance.