

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 master

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

Thème

*Etude de la résistance aux antibiotiques
chez les bacilles à Gram négatif isolés des
effluents de deux établissements publics
hospitaliers de la wilaya de Tizi Ouzou*

Présenté par

M^{elle} NAIT DAOUD Zahra

M^{elle} OUALI Fahima

Membres de jury

Présidente : M^{me} KERAMANE B.

Promotrice : M^{me} YOUSFI K.

Examineurs : M^{me} MESSAOUDI K.

M^r BELHADI D.

Promotion 2012/2013

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre promotrice M^{me} Yousfi ; son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury qui ont accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Zahra et Fahima.



Dédicaces

Je dédie cet humble travail

A Mes très chers parents

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie

Je les remercie de m'avoir accompagnée tout au long de mon parcours

*A mon grand et unique frère **Halim***

A mon adorable amie et sœur Zahra

A toute ma famille et mes amies qui par leurs prières et leurs encouragements, j'ai pu surmonter tous les obstacles.

Fahima

Dédicaces



J'ai le plaisir de dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres les plus chers au monde, ma mère et mon père, pour tout votre amour, votre soutien et votre stimulante fierté.

Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je vous porte.

Pour mes chers frères ***Menad, Abd Assalam*** et ***Messaoud*** ; que le bon dieu vous protège.

A ma chère sœur et binôme Fahima,

A toute ma famille,

A tous ceux qui me sont proches et chers,

Merci également à tous ceux qui ont, un jour ou l'autre, m'ont offert leurs amitiés et des moments inoubliables...



Zahra

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction 01

Matériel et méthodes

I. Milieux et réactifs utilisés 05

II. Prélèvement 06

III. Isolement et purification..... 07

IV. Identification des souches 07

IV.1. Caractérisation physiologique et cellulaire07

IV.2. Identification biochimique (la galerie API20E) 07

V. Etude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques..... 09

V.1.Préparation d'inoculum 09

V.2.Ensemencement..... 09

V.3.Application des disques..... 10

VI. Détection de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) par un DD-Test 10

Résultats

I. Isolement et identification 11

II. Etude de la sensibilité des bacilles Gram négatif aux antibiotiques 12

III. Résultats de DD-test 14

Discussion 15

Conclusion 23

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

N°	Titre	Pages
I	Liste des antibiotiques utilisés.....	05
II	Renseignement sur les différents prélèvements.....	06
III	Représentation du nombre de souches (R, I, S) des deux prélèvements.....	12

Liste des tableaux en annexes

- I** : tableau de lecture de la galerie API 20 E
- II** : Résultats de la galerie biochimique d'identification pour le prélèvement d'Azazga
- III** :Phénotypes de résistance pour les souches prélevées d'Azazga
- IV** : Résultats de la galerie biochimique d'identification pour le prélèvement de Draa El Mizan
- V** :Phénotypes de résistance pour les souches prélevées de Draa El Mizan

Liste des figures

N°	Titre	Pages
1	La disposition des disques dans le test de synergie	10
2	Répartition du nombre d'espèces isolées des deux prélèvements.....	11
3	Représentation de nombre de souches (R, I, S) isolées du l'E.P.H Azazga.....	13
4	Représentation de nombre de souches (R, I, S) isolées du l'E.P.H Draa El Mizan	14
5	DD-test de quelques souches isolées.....	14
6	Représentation du nombre de souches productrices de BLSE par espèce	15

Liste des figures en annexes

1	Exemple de résultat d'identification par galerie API 20 E (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)
----------	--

Liste des abréviations

ADH : Arginine Déshydrogénase

AmpC: Céphalosporinase

AMY: Amygdaline

ARA: Arabinose

BLSE : β -lactamase à spectre élargie

CA-SFM : Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} Génération

CAZ : Ceftazidime

CN : Gentamicine

CRO : Ceftriaxone

CTX : Céfotaxime

CTX-M : Céfotaximase Munich

CIT: Citrate

DD-Test: Double-disk test

E.P.H : Etablissement Public Hospitalier

FEP : Céfepime

FOX : Céfoxitine

FQ : Fluoroquinolone

Gel : Gélatine

Glu: Glucose

I: Intermédiaire

IND: Indole

INO: Inositol

IMP : Imipenème

LDC : Lysine Décarboxylase

Man: Mannitol

MEL: Melibiose

ODC: Ornithine Décarboxylase

ONPG: Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside

RHA: Rhamnose

R: Résistant

S: Sensible

SAC: Saccharose

SHV: Sulfhydryl Variable

SOR: Sorbitol

SXT: Triméthoprime-Sulfaméthoxazole

TDA : Tryptophane Désaminase

TEM : Temoneira

URE: Urée

VP: Voges-Proskauer

Introduction

Les antibiotiques sont un groupe important de produits pharmaceutiques utilisés pour le traitement et la prévention des infections bactériennes; à leur tour les bactéries ont développé des mécanismes différents pour rendre ces molécules ineffectives (Schwartz et *al.*, 2003 ; Diwan et *al.*, 2010).

L'utilisation intensive des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire a conduit à l'émergence des souches résistantes au sein des populations bactériennes (Elmanama et *al.*, 2006 ; Martin et *al.*, 2007). Cette résistance est en perpétuel évolution, elle est devenue un problème important de santé clinique et publique (Guardabassi et *al.*, 1998 ; Elmanama et *al.*, 2006).

Malheureusement, en raison d'un usage inadapté et trop souvent inconsideré de ces médicaments, couplé à la capacité d'adaptation des bactéries et aux possibilités de transferts génétiques ; l'espoir apporté par ces substances a fait progressivement place à une constatation préoccupante. L'emploi inconsideré des antibiotiques contribue au phénomène de l'émergence et de la dissémination des germes résistants ainsi qu'à des échecs de l'antibiothérapie (Corvaglia, 2006).

La situation apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier ; en raison de l'utilisation d'un grand volume d'antibiotiques. Une grande partie de ces antibiotiques utilisés restent non métabolisée par l'organisme humain et donc une quantité importante est jetée dans l'environnement par l'intermédiaire de l'excrétion. Cela contribue à la présence des résidus d'antibiotiques dans les eaux usées hospitaliers (Diwan et *al.*, 2010).

Ces molécules exercent une sélection en faveur de bactéries résistantes en tuant ou en inhibant la croissance des bactéries sensibles; les bactéries résistantes peuvent s'adapter aux conditions environnementales et servir de vecteurs pour la propagation de la résistance aux antibiotiques (Elmanama et *al.*, 2006).

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques diffèrent d'une bactérie à une autre et selon les antibiotiques en cause, cette résistance se distingue par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Yala et *al.*, 2001 ; Conly ,2002).

Plusieurs mécanismes de résistance ont été décrits parmi lesquels on trouve la dégradation enzymatique des antibiotiques, l'altération des cibles auxquelles se lient les antibiotiques et l'expulsion de l'antibiotique par la bactérie. L'accumulation de mutations ponctuelles peut altérer de façon significative l'enzyme: des β -lactamases (enzymes dégradant les pénicillines)

mutées peuvent désormais hydrolyser des céphalosporines de troisième génération (Roy, 1997).

La résistance naturelle est une insensibilité aux antibiotiques, existante naturellement chez les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne et qui se transmet à la descendance tel que, *Klebsiella pneumoniae* qui résiste naturellement aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines (Maurin et al., 1995). En revanche, la résistance acquise résulte de l'acquisition de nouveaux gènes obtenus soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert des plasmides conjugatifs, de transposons ou par transformation (Seck, 2005).

Les plasmides de conjugaison peuvent être facilement transférés à d'autres bactéries. Ce mécanisme de transfert de gènes est particulièrement important dans les effluents hospitaliers, parce que de tels environnements, la possibilité d'échange de gènes est augmentée comme un résultat de densité plus élevée et un plus grand contact entre ces micro-organismes, ce qui permet d'augmenter le taux de transfert horizontal de ces gènes (Prado et al., 2007).

Les bactéries nous ont montré leur aptitude à évoluer. Ces dernières années nous avons constaté l'émergence de la résistance aux antibiotiques dans plusieurs espèces (Lambert, 1991). La fréquence et l'ampleur des infections causées par les bacilles à Gram négatif résistants aux antibiotiques sont en véritable augmentation (Ben Hamed et al., 1988).

Les bacilles à Gram négatif sont les causes les plus fréquentes d'infections communautaires ou nosocomiales tel qu'*Escherichia coli* qui est la cause la plus fréquente des infections urinaires, *Klebsiella sp.* et *Enterobacter sp.* impliquées dans les pneumonies (Paterson et al., 2006 ; Vora et Auckenthaler, 2009).

Plusieurs mécanismes sont à la base de la multirésistance des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques dont l'inactivation enzymatique reste cependant le mécanisme prépondérant et en particulier la production de β -lactamases pour la résistance aux β -lactamines ; ces enzymes altèrent chimiquement les β -lactamines et les rendent ainsi inactifs en hydrolysant l'anneau β -lactame des pénicillines et des céphalosporines (Jacoby et Munoz-Price, 2005 ; Philippon et al., 2002).

Les plus importantes de ces enzymes sont les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) conférant la résistance aux céphalosporines de troisième génération et à l'aztréonam (Hamouche et Sarkis ; 2012).

Les organismes produisant des BLSE sont donc une cause importante pour l'échec de la thérapie avec les céphalosporines (Pitout et *al.*, 2005).

Les volumes d'eau utilisés quotidiennement en milieu hospitalier sont très importants, croissants avec la taille de l'établissement jusqu'à 750 L à 1000 L par lit et par jour ce qui conduit parallèlement à la production des effluents hospitaliers non négligeables. Ceci entraîne une forte dilution de la charge microbienne et les études réalisées montrent que sur le plan microbiologique les eaux usées hospitalières sont quantitativement moins chargées que les eaux usées urbaines. Le danger est plutôt lié à la résistance de certaines bactéries aux antibiotiques (Hartemann et *al.*, 2006).

Selon Boillota et al. (2008) ; d'un point de vue qualitatif, les effluents d'hôpital peuvent être classifiés dans deux catégories principales. Type domestique inclus les décharges des cuisines, des blanchisseries, patients et hygiène de personnel. La deuxième catégorie est celle des effluents spécifiques aux hôpitaux. Ils sont produits par des activités de soin, d'analyse et de recherches. Ces décharges peuvent contenir des désinfectants, des détergents, des excréctions contagieuses qui sont exposées à contenir des microbes pathogènes, des liquides, des résidus d'antibiotiques, etc.

L'issue des substances dangereuses est un souci important en ce qui concerne la santé et l'environnement. Ceci a mené au lancement des études dans la caractérisation des effluents d'hôpital (Boillota et al., 2008).

Plusieurs études ont prouvé la présence d'antibiotiques et beaucoup de bactéries résistantes ainsi que des gènes de résistance dans le rejet d'effluent hospitalier (Prado et *al.*, 2007 ;Galvin et *al.*, 2010) comme le montre le travail mené par Korzeniewska et Harnisz (2013) en Pologne qui a révélé une forte présence des entérobactéries résistantes aux β -lactamines dans les échantillons d'eaux d'égout de l'hôpital.

L'ensemble de ces données sur les effluents hospitaliers, en particulier les aspects microbiologiques, toxicologiques et génotoxiques, ajoutés à l'importance des volumes d'effluents produits et leur évacuation à un même titre que les rejets urbains vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable ; amène à se poser plusieurs questions sur le risque potentiel qu'ils peuvent présenter pour l'homme et son environnement (Passerat et *al.*, 2010).

C'est dans le but d'évaluer la résistance des bacilles à Gram négatif isolés des effluents générés par les deux établissements publics hospitaliers de la wilaya de Tizi Ouzou que notre étude est entreprise. Pour ce faire ; nous avons adopté le plan suivant :

- ❖ Collection et identification des souches de bacilles à Gram négatif ;
- ❖ Détermination des profils de résistance aux différentes familles d'antibiotiques

(β -lactamines, fluoroquinolones, aminosides et sulfamides) ;

- ❖ Détection de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) par un DD-Test.

Matériel et Méthodes

I. Milieux et réactifs utilisés

- ❖ Les deux milieux de culture utilisés sont : Mac Conkey et Mueller Hinton (leur composition est présentée en annexe I).
- ❖ La galerie API 20E utilisée pour l'identification des souches, provient du laboratoire Bio Mérieux de France.
- ❖ Réactifs additionnés : huile de vaseline, Voges-ProskauerI (VPI), VPII, tryptophane désaminase (TDA) et le réactif de Kovacs, la composition de ces derniers est donnée en annexe I.
- ❖ Les antibiotiques utilisés sont :
 - En poudre : céftazidime et céftriaxone
 - Les antibiotiques en disque testés sont présentés dans le tableau I.
- ❖ Le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{O}_3\text{S}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) est utilisé comme un agent neutralisant avec une concentration de 20 mg/L, provenant de Biochem-Chemopharma.

Tableau I: liste des antibiotiques utilisés

Antibiotiques	Abréviation	Famille	Charge	fabriquant
Céfoxitine	FOX	β -lactamines	30 μg	Himedia
Ceftazidime	CAZ	β -lactamines	30 μg	Himedia
Céfotaxime	CTX	β -lactamines	30 μg	Himedia
Céfépime	FEP	β -lactamines	30 μg	Oxoid
Aztréonam	AT	β -lactamines	30 μg	Himedia
Imipénème	IMP	β -lactamines	10 μg	Oxoid
Amoxicilline/acide clavulanique	AMC	β -lactamines	30 μg	Himedia
Ciprofloxacine	CIP	Fluoroquinolones	5 μg	Himedia
Tobramycine	TOB	Aminosides	10 μg	Himedia
Gentamicine	CN	Aminosides	120g	Oxoid
Cotrimoxazole	COT	Sulfamides	25 μg	Himedia
Triméthoprim/sulfaméthoxazole	SXT	Sulfamides	25 μg	Himedia

II. Prélèvement

Deux prélèvements des eaux usées hospitalières sont effectués au niveau de deux établissements publics hospitaliers (E.P.H) de la wilaya de Tizi Ouzou ; Meghnef Lounes (commune Azazga, située à 36 km à l'est de Tizi Ouzou) et Krim Belkacem (commune Draa El Mizan, située à 42 km au sud-ouest de Tizi Ouzou).

Pour chaque prélèvement, quatre échantillons de 200 ml ont été collectés à partir des bouches d'égout et recueillis dans des flacons listés stériles après les avoir reliés avec un fil ; puis additionnés d'1ml de la solution de thiosulfate de sodium à une concentration de 4mg/L pour neutraliser l'effet de biocides tels que le chlore, l'iode ou le brome et d'autres oxydants.

Les échantillons sont acheminés dans une glacière au laboratoire de Microbiologie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa.

Le tableau II, résume les différentes informations sur les prélèvements réalisés.

Tableau II: Renseignements sur les différents prélèvements.

Hôpital	Date et heure du prélèvement	Echantillon	Origine de l'échantillon
E.P.H AZAZGA	20 février 2013 [09h45 -12h00]	E 1	collecteur principal (regroupe les différents services)
		E 2	
		E 3	service d'hémodialyse
		E 4	service pédiatrie, gynécologie, médecine interne femme et chirurgie générale femme
E.P.H DRAA EL MIZAN	27 février 2013 [09h15 - 11h00]	E 1	service d'hémodialyse, les urgences, bloc opératoire
		E 2	
		E 3	service d'hospitalisation, laboratoire d'analyse,
		E 4	cabinet dentaire, radiologie, administration, cuisine, et buanderie.

III. Isolement et purification

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

- ❖ Trois dilutions (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}) sont préparées, pour chaque échantillon, dans de l'eau physiologique stérile.
- ❖ Un ensemencement en surface, de 0.1ml de la solution mère et de ses dilutions est effectué sur des boîtes de pétri contenant le milieu Mac Conkey additionné de $2\mu\text{g/ml}$ de CAZ ou de $2\mu\text{g/ml}$ de CRO. Ensuite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.
- ❖ Après incubation, l'isolement est effectué en choisissant des colonies de couleur et de forme distinctes. Puis des repiquages successifs sont réalisés sur gélose Mac Conkey pour obtenir des souches pures.

IV. Identification des souches

Après la purification des souches isolées, leur identification est effectuée en procédant aux étapes suivantes :

IV.1. Caractérisation physiologique et cellulaire

La coloration de Gram est réalisée à fin de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne (le Gram), de déterminer la forme et la taille des bactéries

IV.2. Identification biochimique (La galerie API 20E)

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif, elle se compose de 20 microtubes, contenant chacun un substrat déshydraté différent pour réaliser 21 tests biochimiques miniaturisés.

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (Apident).

Les tests réalisés pour la recherche des différents caractères biochimiques sont présentés en annexe II.

❖ Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

❖ Préparation de l'inoculum :

Une suspension bactérienne est préparée dans un tube de 5ml d'eau physiologique stérile, à une opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

❖ Inoculation de la galerie

La suspension bactérienne est introduite dans les tubes de la galerie à l'aide d'une micropipette :

- Remplir les tubes et les cupules des tests : citrate (CIT), VP, gélatine (GEL) avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : arginine déshydrogénase (ADH), lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC), urée (URE), H₂S en rajoutant une goutte d'huile de vaseline.

Refermer la boîte puis l'incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

❖ Lecture

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (annexe II).

- Si trois tests ou plus sont positifs, les résultats des réactions spontanées sont notés, puis la révélation des tests nécessitant l'addition des réactifs :

Test TDA : l'ajout d'une goutte de réactif TDA ; l'apparition d'une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive.

Test VP : addition d'une goutte de réactif VPI et VPII, attendre au minimum 10mn, apparition d'une couleur rose ou rouge indique que le test est positif.

Test indole (IND) : l'ajout d'une goutte de réactif Kovacs, une couleur rose diffusant dans toute la cupule, révèle une réaction positive. Ce test doit être réalisé en dernier car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation des autres tests de la galerie.

- Si le nombre de test positif avant l'ajout des réactifs est inférieur à 3, la galerie doit être réincubée 24h de plus sans l'ajout des réactifs.

V. Etude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques

La sensibilité des souches vis -à-vis des différentes familles d'antibiotiques est évalué par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2010).

V.1.Préparation d'inoculum

Des suspensions bactériennes sont préparées à partir d'une culture fraîche en prélevant des colonies bien isolées et les mettre en suspension dans 5ml d'eau physiologique stérile pour obtenir la même opacité que l'étalon Mac Farland 0.5 (10^7 UFC/ml).

V.2.Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en faisant des stries serrées du bout au bout par un écouvillon imbibé de la suspension bactérienne et essoré en le pressant sur la paroi interne de tube. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° en pivotant toujours l'écouvillon sur lui-même puis le passer sur la périphérie de la boîte.

V.3.Application des disques

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 24h à 37°C.

L'interprétation en sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) est effectuée selon les critères définis par CA-SFM (2010) en mesurant le diamètre des zones d'inhibition au tour des disques par un pied à coulisse.

VI. Détection de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) par un DD-Test

La démonstration phénotypique de la présence de β -lactamases à spectre élargi consiste à mettre en évidence une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases (AMC) et des disques de céphalosporines de troisième génération (C3G) (ceftazidime et céfotaxime), un mono-bactame (aztréonam) et un disque de céphalosporine de quatrième génération (C4G) (céfépime). Cette image de synergie dite en bouchon de champagne est caractéristique de la présence de BLSE.

Ce test est réalisé sur milieu Mueller Hinton selon la méthode de Jarlier et *al.* (1988).

Les disques d'antibiotiques sont espacés de 30mm de centre à centre (figure1).

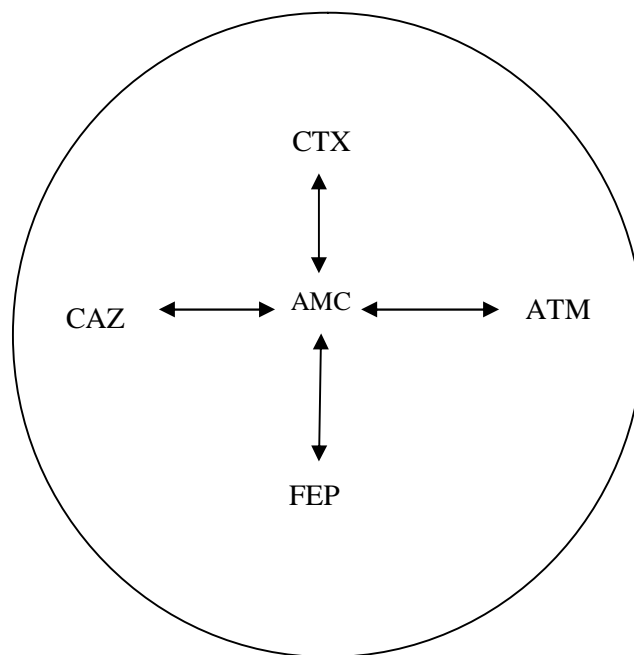


Figure 1: la disposition des disques d'antibiotiques dans le test de synergie.

Résultats

I. Isolement et identification

Au cours de cette étude et tout au long de la période des prélèvements nous avons prélevé 8 échantillons des eaux usées hospitalières.

L'analyse microbiologique de ces échantillons a permis d'isoler 54 bacilles à Gram négatif, répartis comme suit :

- ❖ 32 souches pour l'E.P.H d'Azazga, dont 18 souches sont résistantes à la CAZ et 14 souches vis- à-vis de la CRO.
- ❖ 22souches pour l'E.P.H Draa El Mizan avec 13 souches qui résistent à la CAZ et 9 souches à la CRO.

L'identification des souches sur la base des caractères biochimiques et morphologiques a permis de caractériser les 52 souches des deux prélèvements. (Figure 2)

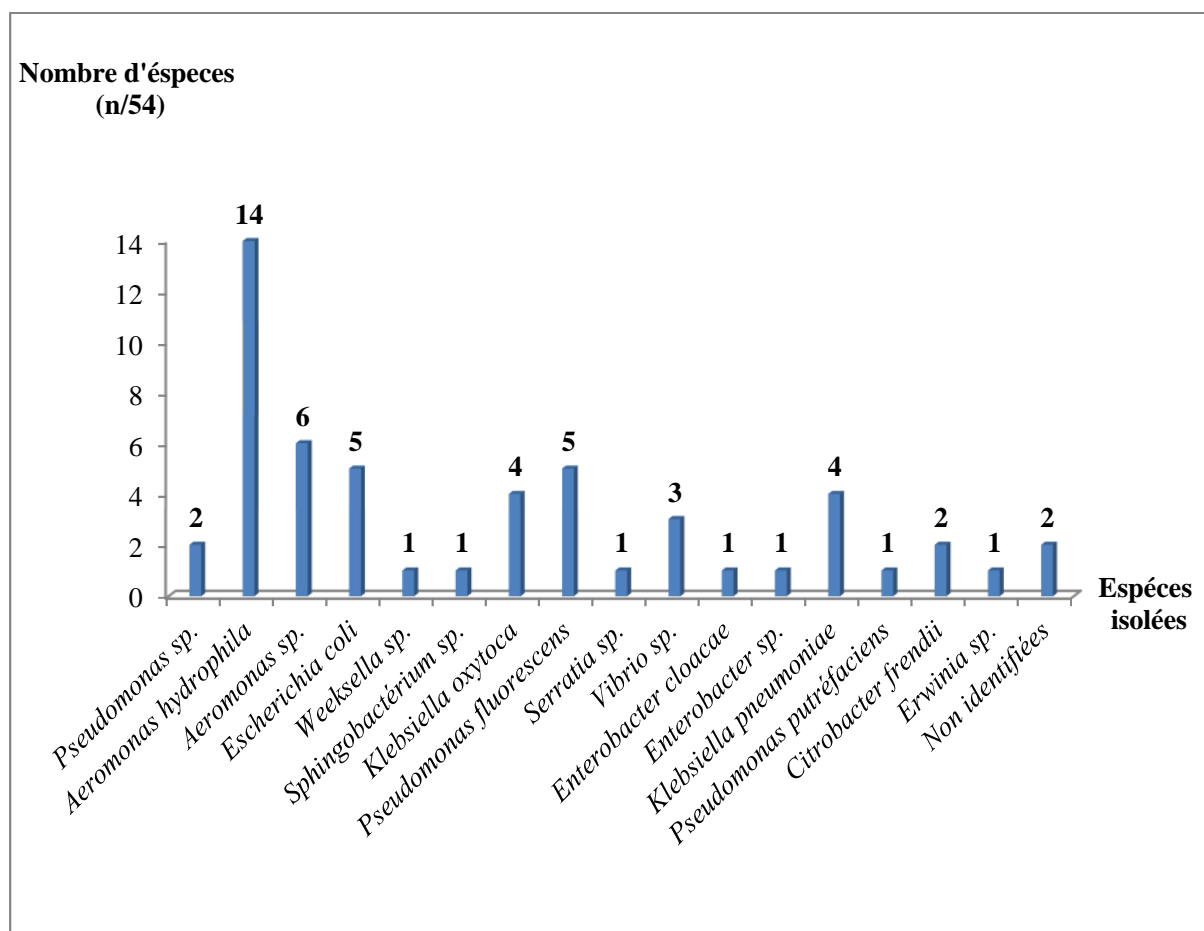


Figure 2 : répartition du nombre d'espèces isolées des deux prélèvements

- ❖ **Etablissement public hospitalier d’Azazga:** les 32 souches isolées au niveau de cet E.P.H sont identifiées dont *Aeromonas hydrophila* était l’espèce la plus fréquente (n=6) suivie de *Pseudomonas fluorescens* (n=4). D’autres espèces et genres bactériens sont aussi identifiés (*Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Erwinia sp.*, *Enterobacter sp.* et *Vibrio sp.*).

- ❖ **Etablissement public hospitalier Draa EL Mizan :** l’identification des 20 souches parmi les 22 isolées a permis d’obtenir les genres et les espèces suivants : *Pseudomonas sp.*, *Aeromonas sp.*, *Weeksella sp.*, *Sphingobacterium sp.*, *Vibrio sp.*, *Serratia sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, avec une prédominance d’*Aeromonas hydrophila* (n=8).

II. Etude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques

Les 52 souches identifiées présentent un profil de résistance variable vis-à-vis des antibiotiques testés.

Les profils de résistance ont été déterminés en se basant sur les diamètres obtenus sur l’antibiogramme standard. (Tableau III).

Tableau III : représentation du nombre de souches (R, I, S) des deux prélèvements.

Antibiotique	CAZ	FEP	AT	CTX	IMP	CX	TOB	CIP	SXT
Nombre de souches sensibles (S)	11	41	16	8	46	14	43	43	22
Nombre de souches intermédiaires (I)	9	8	7	2	2	11	3	2	2
Nombre de souches résistantes (R)	32	3	29	42	4	27	6	7	28

❖ **Etablissement public hospitalier d’Azazga**

Le nombre de souches (R, I, S) isolées au niveau de cet E.P.H est illustré sur la figure ci-dessous.

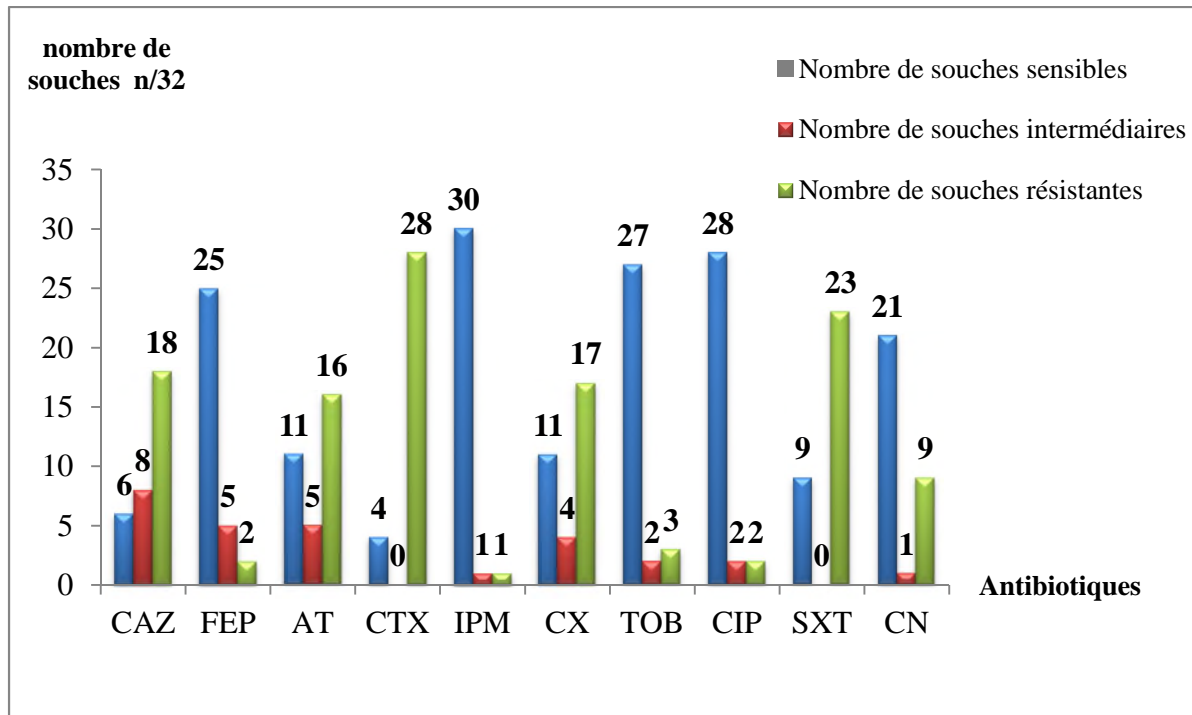


Figure 3: représentation du nombre de souches (R, I, S) isolées de l’E.P.H Azazga

L’étude de la sensibilité des souches aux β-lactamines a révélé que 28/32 souches sont résistantes à la CTX ,18/32 à la CAZ, 2/32 souches vis -à-vis la FEP et 16/32 souches à l’AT tandis qu’une seule souche (*Pseudomonas fluorescens*) qui a été résistante à l’IMP.

Pour la CX 17/32 souches ont été résistantes et 4/32 sont intermédiaires.

En plus des β-lactamines nous avons testé le profil de résistance des souches par rapport aux aminosides, sulfamides et les fluoroquinolones.

Les résultats ont montré la résistance de 9/32 souches à la CN, 3/32 souches à la TOB, 23/32 souches à SXT et 2 vis-à-vis de la CIP.

❖ **Etablissement public hospitalier Draa EL Mizan**

Sur les 22 souches isolées de l’E.P.H. de Draa El Mizan, uniquement 20 ont été testées pour leurs profils de résistance. La répartition des souches (R, I, S) est représentée sur la figure 4.

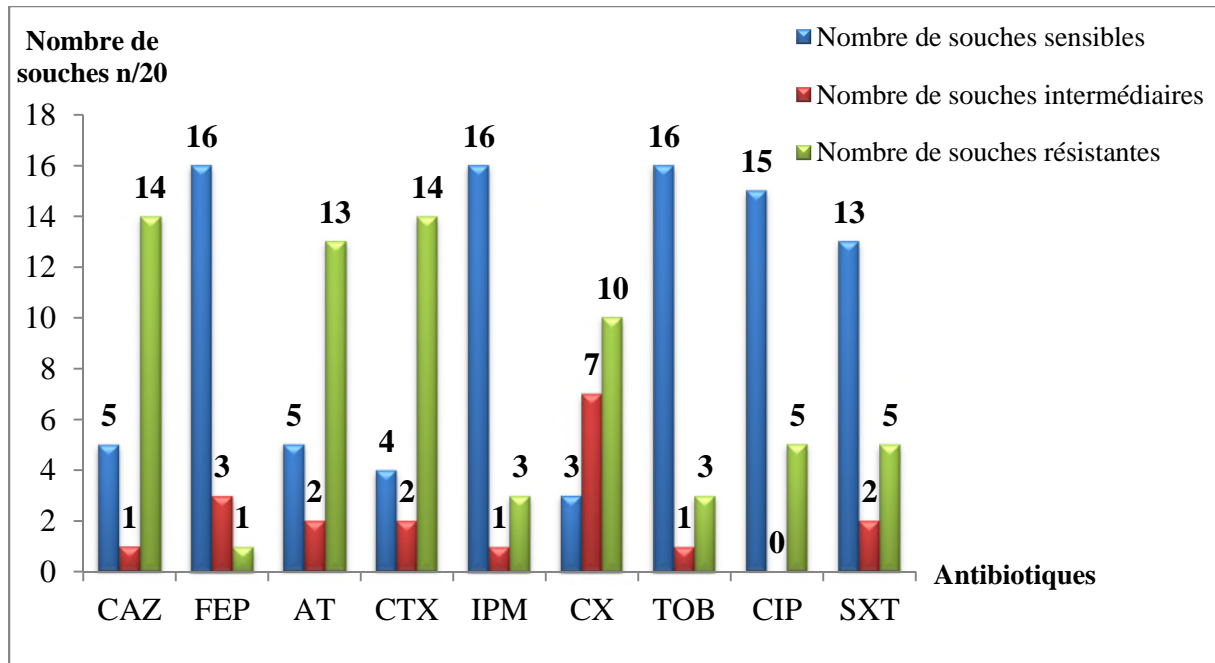


Figure 4 : représentation du nombre de souches (R, I, S) isolées de l’E.P.H Draa El Mizan

Les résistances les plus élevées ont été observées pour la CAZ et le CTX (14/20), AT (13/20). Par ailleurs, la résistance à la CIP et SXT a été de 5/20. La résistance à l’imipénème est observé chez 3 souches : *Pseudomonas sp.*, *Weeksella sp.* et *Aeromonas hydrophyla*. Cette dernière a présenté une résistance à tous les antibiotiques testés.

III. Résultats de DD-test

Le test de synergie réalisé sur les 52 souches a permis d’observer une image de synergie caractéristique sur 39 souches traduisant ainsi la production probable de BLSE (figure 5): 28/32 souches du prélèvement d’E.P.H d’Azazga, et 11/20 souches du prélèvement de Draa El-Mizan.

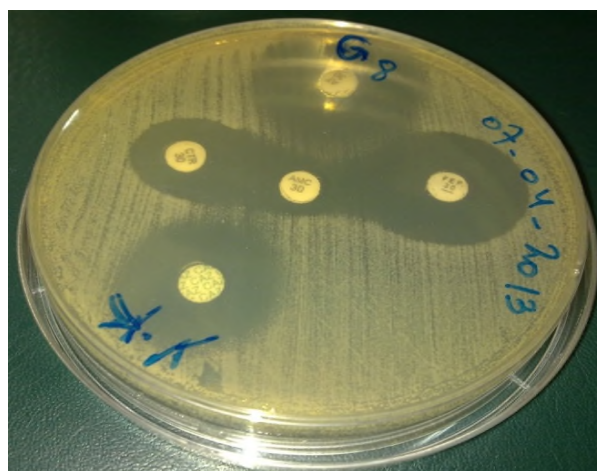


Figure 5: DD-test d’*Enterobacter sp.*

La figure suivante présente le nombre de souches produisant des BLSE par espèces.

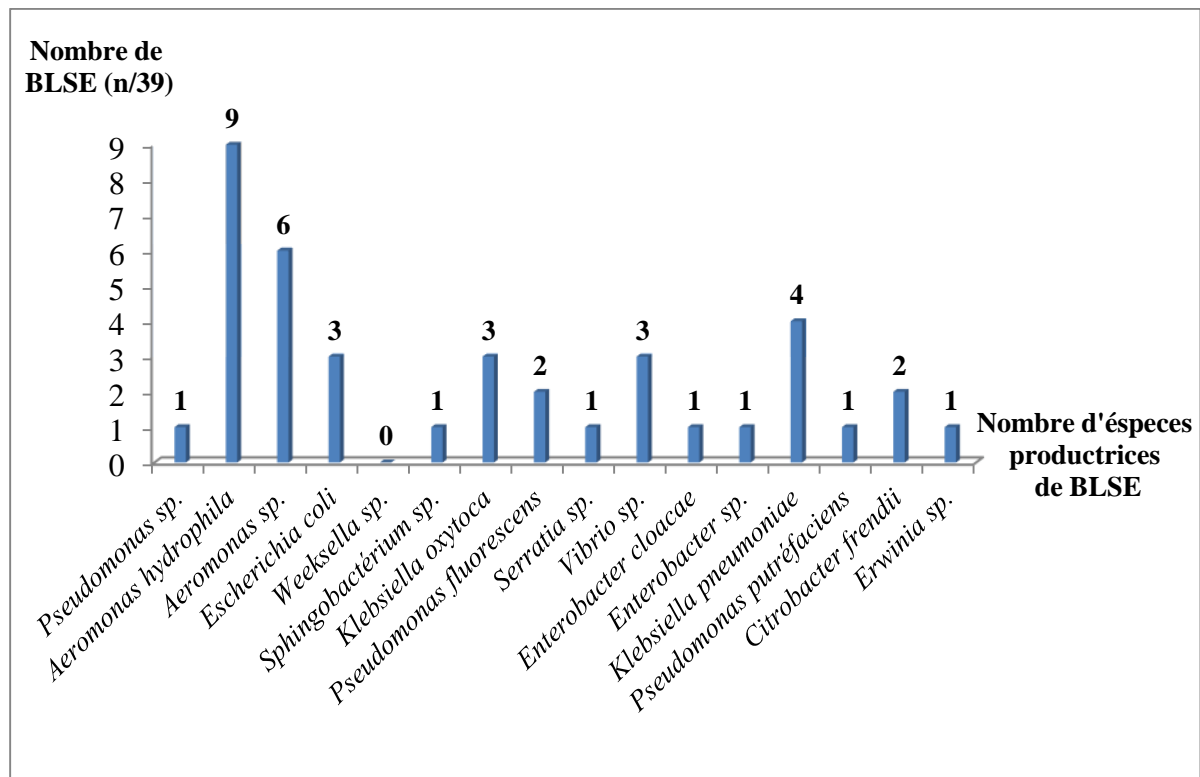


Figure 6: représentation du nombre de souches productrices de BLSE par espèces

Les souches présentant un phénotype BLSE ont un taux élevé chez les *Aeromonas sp.* (15/39) dont 9 souches d'*Aeromonas hydrophyla* sont incluses; suivi de *Klebsiella pneumoniae* (4/39), *Escherichia coli*, *Vibrio sp.* et *Klebsiella oxytoca* (3/39), *Pseudomonas fluorescens* et *Citrobacter freundii* (2/39), *Pseudomonas putréfaciens*, *Pseudomonas sp.*, *Erwinia sp.*, *Serratia sp.*, *Entérobacter cloacae*, *Entérobacter sp.* et *Spingobactérium sp.* (1/39).

Discussion

La présente étude a été effectuée sur un collectif de 54 souches de bacilles à Gram négatif isolées au niveau des eaux usées de deux E.P.H de la wilaya de Tizi Ouzou (Azazga et Draa El Mizan).

52 souches sur les 54 isolées sont identifiées est affiliées à 5 familles : *Aeromonadaceae* (20/52), *Enterobacteriaceae* (19/52), *Pseudomonadaceae* (8/52) *vibrionaceae* (3/52), *Flavobacteriaceae* (2/52). Cela indique une diversité de la population bactérienne présente dans les effluents des deux E.P.H de la wilaya de Tizi Ouzou.

Ces résultats sont en accord dans certains points avec ceux obtenus par Diab et al. (2008) sur la présence des bactéries à Gram négatives résistantes aux antibiotiques dans les effluents de cinq hôpitaux à Al-Madinah Al- Mounawarah dont ils ont révélé la présence d'*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Aeromonas hydrophila*

Par contre d'autres espèces que nous n'avons pas isolé : *Moraxella sp.*, *Salmonella sp.* et *Pasteurella sp.* sont aussi identifiées par ces auteurs.

Une étude menée par Elmanama et al. (2006) à Gaza sur les effluents hospitaliers a permis également d'isoler *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.* et *Escherichia coli*.

Certains genres bactériens que nous avons identifiés au cours de cette étude tels que *Spingobacterium*, *Erwinia*, *Weeksella* et *Aeromonas* ne sont pas trouvés lors des études réalisées par Diab et al. (2008) et Elmanama et al. (2006).

Ainsi le travail de Korzeniewska et Harnisz (2013) en Pologne sur les entérobactéries dans les effluents hospitaliers a révélé la présence des souches d'entérobactéries que nous avons isolées dans notre présente étude à l'exception d'*Erwinia sp.*

D'après Chitinis et al. (2000), Prado et al. (2007) et Galvin et al. (2010); les effluents hospitaliers contiennent des bactéries résistantes vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. C'est le cas de notre étude où le taux de bactéries multi résistantes observé est de (24/32) pour l'hôpital Azazga et (10/20) pour l'hôpital Draa El Mizan.

Cette multi résistance peut s'expliquer par le fait que les gènes de résistance peuvent être portés par le même plasmide, la coexistence de plusieurs mécanismes de résistance ou par la production de plusieurs types d'enzymes (Gangoue Pieboji, 2007).

Concernant la sensibilité des souches aux antibiotiques, les taux de résistance les plus importants que nous avons observé pour les deux hôpitaux sont présentés par : CTX, CAZ,

AT et SXT avec 42/52 (80.76%), 32/52 (61.53%), 29/52 (55.76%) et 28/52(53.84%) respectivement.

Ces taux de résistance sont plus élevés par rapport à ceux obtenus par Elmanama et *al.* (2006) (CTX 14%, CAZ 8.3%, AT 13.2%, SXT 41.3%) et moins faible pour les deux antibiotiques CAZ et CTX en comparant avec les résultats de l'étude réalisée par Korzeniewska et Harnisz (2013) avec 81.6% (CAZ) et 95.2% (CTX).

Cependant des taux de résistance peu important sont enregistrés pour TOB (6/52 (11.53%)) et CIP (7/52 (13.46%)) qui sont assez proches de ceux obtenus par Elmanama et *al.* (2006) (11.6% et 12.4%).

Les β -lactamases constituent toujours le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux β -lactamines, en particulier chez les bacilles à Gram négatif (Phillipon et Arlet, 2006).

Ce mécanisme leur confèrent une résistance vis-à-vis des différents antibiotiques de la famille des β -lactamines et seul l'imipenème reste la β -lactamine la plus souvent active, en général sur les entérobactéries dont la sensibilité aux céphalosporines de C3G est diminuée (Scheftel et *al.*, 1994).

Dans notre cas le taux de production de ces enzymes est de 39/52 avec un taux élevé pour les *Aeromonas* 15/39 suivi de *Klebsiella pneumoniae* 4/39.

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la plupart des cas à la sélection des populations bactériennes résistantes, cette résistance peut être naturelle ou acquise. Les gènes codant pour ces mécanismes de défense sont situés sur le chromosome bactérien ou sur des plasmides extrachromosomiques, et sont transmis à la génération suivante (transfert vertical), Les éléments génétiques tels que les plasmides, peuvent également être échangés entre bactéries de différents taxon (transfert horizontal) (Schwartz et *al.*, 2003).

Escherichia coli

Les souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*) sont sensibles à toutes les β -lactamines malgré la présence d'une céphalosporinase chromosomique de classe C qui est exprimée à très bas niveau. Cette bactérie est caractérisée par une aptitude particulière à acquérir des mécanismes de résistance à des antibiotiques habituellement actifs, pouvant parfois survenir en cours d'antibiothérapie (Lavigne et *al.*, 2002).

La résistance aux céphalosporines chez *E. coli* peut être due à une hyperproduction de céphalosporinase de type AmpC causée par une mutation dans le promoteur du gène codant

pour cette enzyme ou par l'acquisition d'un plasmide portant ce gène (Philippon *et al.*, 2002). C'est le cas des 5 souches que nous avons isolé au cours de cette étude.

Différents types de BLSE ont été rapportés chez *E. coli* (TEM, SHV et CTX-M) dont CTX-M est majoritairement décrite au niveau de cette espèce (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

Les BLSE produites par les 3 souches parmi les 5 isolées sont autres que CTX-M possédant une activité hydrolytique contre la FEP et CTX, alors que l'inactivation de la CAZ est plus limitée.

Cependant, certaines BLSE de type CTX-M peuvent réellement hydrolyser la CAZ et conférer une résistance à cette céphalosporine (CTX-M-15, CTX-M-16 et CTX-M-27) (Paterson et Bonomo, 2005 et Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

L'étude effectuée par Korzeniewska et Harnisz (2013) a permis d'isoler des souches d'*E. coli* productrices de BLSE de type CTX-M 3, CTX-M 9, CTX-M 15, SHV- 5 et TEM- 49.

Les souches d'*E. coli* sont naturellement sensibles aux aminosides ; la résistance acquise à ces derniers est peu fréquente (Seck rose, 2005).

Elles sont également naturellement sensibles aux fluoroquinolones (FQ), mais l'usage abusif de ces molécules a fait augmenter la résistance d'*E. coli* aux FQ au cours de la dernière décennie (Tagajdid *et al.*, 2010).

Klebsiella pneumoniae

C'est un germe commensal du tube digestif et l'appareil respiratoire, il est présent en faible concentration dans l'environnement et doté d'une grande importance dans l'hospitalisme infectieux, généralement dans les infections urinaires, pneumopathies et septicémies (Bellifa *et al.*, 2013).

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) est naturellement résistante aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines par la synthèse d'une pénicillinase chromosomique de classe A sensible aux inhibiteurs de β -lactamases tel que SHV1 (groupe fonctionnel 2b), LEN 1(groupe 2a) (Maurin *et al.*, 1995).

La résistance acquise aux β -lactamines repose sur l'acquisition de β -lactamases d'origine plasmidique de classe C (FOX-1 et CMY-2) du groupe 1 et la production de BLSE de classe A (groupe 2be). (Sougakoff et Trystram, 2003).

De nombreuses BLSE ont été décrites chez cette espèce : TEM-3, TEM-10, TEM-12, TEM-24, TEM-26, ainsi que des variantes de type SHV sont aussi connus (SHV-4, SHV-5, SHV-6 ou SHV-8) (Sougakoff et Trystram, 2003).

Au cours de cette étude ; 4 souches de *K.pneumoniae* ont été collecté au niveau de l'E.P.H Azazga, elles sont toutes sensibles à la FEP et productrices de BLSE.

La détermination du type de BLSE montre que les BLSE de type SHV ou TEM sont les plus probables pour ces souches.

Une étude faite par Prado *et al.* (2008) au Brésil sur les *K.pneumoniae* isolées des effluents hospitaliers a montré la production de BLSE pour 8 souches parmi les 15 isolées.

Une BLSE de type SHV-2 est également détecté par Korzeniewska et Harnisz (2013) chez une souche de *K. pneumoniae* isolée des eaux usées hospitalières en Pologne.

Klebsiella oxytoca

Les caractères généraux de *Klebsiella oxytoca* (*K.oxytoca*) sont identiques à ceux de

K. pneumoniae, à l'exception du métabolisme de tryptophane en indole qui est positif chez *K.oxytoca*.

La production d'une pénicillinase chromosomique de classe A sensible aux inhibiteurs de β -lactamase de type OXY (groupe 2b) confère une résistance naturelle aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines chez cette espèce.

La résistance acquise repose sur une hyperproduction de la β -lactamase chromosomique qui est due à des mutations ponctuelles dans la région du promoteur de transcription des enzymes chromosomiques (OXY) et la production d'une BLSE de classe A (Sougakoff et Trystram, 2003).

Trois souches parmi les quatre que nous avons isolées sont productrices de BLSE et présentant un profil de résistance variable vis-à-vis de CAZ, CTX et l'AT, par contre elles sont toutes sensibles à la FEP. Les BLSE produites par ces souches sont probablement de type SHV ou TEM.

Selon l'étude menée par Korzeniewska et Harnisz (2013) sur les effluents hospitaliers, des gènes codant pour les BLSE ont été révélé pour la souche *K. oxytoca*. (bla_{TEM-48} , bla_{SHV-2}).

Enterobacter sp.

Les souches d'*Enterobacter* produisent une β -lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC ce qui leur permet de résister naturellement à l'amoxicilline, amoxicilline clavulanate, céfalotine et au céfoxitine (Lazar *et al.*, 2002).

Ils ont une résistance acquise par la production constitutive à haut niveau d'une β -lactamase chromosomique de classe C, ce qui entraîne une résistance aux céphalosporines de troisième génération et à l'aztréonam (exemple :*Enterobacter cloacae*) ou par la production d'une BLSE de classe A d'Ambler. (Sougakoff et Trystram, 2003).

Dans cette étude, une souche d'*E. cloacae* et une souche d'*Enterobacter sp.* sont isolées au niveau de l'hôpital Azazga produisant toutes les deux des BLSE qui sont probablement de type TEM ou SHV.

Deux souches d'*Enterobacter cloacae* sont identifiées par Korzeniewska et Harnisz (2013) dont une est productrice de BLSE de type SHV-2.

Citrobacter freundii

Citrobacter freundii (*C. freundii*) est un germe fréquemment isolé en milieu hospitalier. Il peut être responsable d'infections urinaires, d'infections de plaies ou encore de septicémies.

C. freundii est naturellement résistante à l'amoxicilline, à l'amoxicilline-clavulanate et à la céfoxitine par production d'une β -lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC (Sougakoff et Trystram, 2003).

Des mutations touchent le système complexe de la régulation de l'expression du gène AmpC qui comprend trois gènes :ampR, ampD et ampG conduisant à la synthèse constitutive à haut niveau de la β -lactamase chromosomique AmpC entraînant la résistance de *C. freundii* à la ticarcilline, ticarcilline-clavulanate, la pipéracilline, céfamandole, céphalosporines de troisième génération et à un degré moindre à l'aztréonam (Sougakoff et Trystram, 2003).

Deux souches sont isolées provenant de l'EPH d'Azazga présentant une résistance vis-à-vis de CTX, CN et SXT avec une sensibilité à l'IMP et CIP. Cette espèce est également isolée par Diab *et al.* (2008) mais elle a présenté une résistance vis-à-vis de l'IMP.

Serratia sp.

Ce genre bactérien est naturellement résistant à l'ampicilline et à la céfalotine par la production d'une β -lactamase chromosomique inductible de classe C (Engel et *al.*, 2009).

La résistance par hyperproduction de la cephalosporinase chromosomique AmpC peut être trouvée en association avec la production d'une BLSE (Maurin et *al.*, 1995).

Les espèces de *Serratia* sont habituellement sensibles aux aminosides, aux fluoroquinolones et aux cotrimoxazoles (Engel et *al.*, 2009).

La souche de *Serratia sp.* isolée au niveau de l'E.P.H Draa El Mizan est résistante au CTX et à la CX et elle est productrice d'une BLSE.

Aeromonas sp.

Elles sont impliquées dans les septicémies, les infections des plaies et les gastroentérites humaines notamment *Aeromonas hydrophila* qui est un agent virulent et résistant aux antibiotiques. (Callister et Agger, 1987 et Grim et *al.*, 2013).

Elles synthétisent en général une imipénémase, une céphalosporinase et une oxacillinase (classe B, C et D d'Ambler) (Fosse et *al.*, 2003).

Selon Sougakoff et Trystram (2003) *Aeromonas hydrophila* synthétise naturellement une imipénémase de classe B d'Ambler.

Ce genre bactérien est le plus dominant dans notre étude avec 20/52 souches isolées, dont l'espèce *Aeromonas hydrophila* représente un taux élevé de 14/20 souches et 6/20 d'*Aeromonas sp.*

La majorité des souches isolées sont résistantes à la CAZ, CTX et AT, uniquement deux souches qui résistent à la FEP et une souche vis-à-vis de l'IMP. Parmi les 14 souches d'*Aeromonas hydrophila* 9 sont productrices de BLSE et 6/6 pour *Aeromonas sp.*

Concernant d'autres familles d'antibiotiques 3 souches ont développé une résistance vis-à-vis de la TOB et 4 à la CIP. Cette multirésistance est aussi décrite par Diab et *al.* (2008).

Pseudomonas sp.

Pathogène opportuniste isolé essentiellement chez les patients présentant une immunodéficience locale ou générale ; il est naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une β -lactamase chromosomique inductible de

classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération, et d'une mauvaise perméabilité membranaire (Sougakoff et Trystram , 2003).

Pseudomonas sp. résiste généralement à la plupart des antibiotiques par des mutations conduisant à une hyperexpression de la β -lactamase chromosomique de classe C et à une diminution de la perméabilité membranaire (Sougakoff et Trystram , 2003).

Nous avons isolé 5 souches de *Pseudomonas fluorescens*, 1 *Pseudomonas putéfaciens* et 2 *Pseudomonas sp.*, la production des BLSE est de 2/5, 1/1 et 1/2 respectivement.

Deux souches sont résistantes à l'IMP (*Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas sp.*), par contre l'étude menée par Elmanama et *al.* (2006) n'a pas révélé des résistants à l'IMP.

Conclusion

Les bacilles à Gram négatif sont des germes responsables des pathologies variées, fréquentes et parfois redoutables. Ce caractère est dû à leur grande capacité de résistance aux antibiotiques.

Au cour de cette étude qui s'est déroulée au niveau de laboratoire de Microbiologie de l'université Abderrahmane Mira de Béjaia ; portant sur l'étude de la résistance des bacilles à Gram négatif isolés des effluents de deux établissements publics hospitaliers de la wilaya de Tizi Ouzou, nous avons identifié 52 souches :

- ❖ 32 bacilles à Gram négatif provenant de l'E.P.H Azazga et 20 de l'E.P.H Draa El Mizan. Ces souches sont réparties en 5 différentes familles : *Aeromonadaceae* (20/52), *Enterobactériaceae* (19/52), *Pseudomonadaceae* (8/52) *vibrionaceae* (3/52) et *Flavobacteriaceae* (2/52).
- ❖ 34/52 (55.76%) des souches isolées sont multirésistantes.
- ❖ 39/52 (75%) des souches sont productrices de BLSE.

Les résultats obtenus démontrent que les effluents de ces deux E.P.H de la wilaya de Tizi Ouzou sont chargés de bactéries résistantes et la majorité sont productrices de BLSE ;donc les eaux usées provenant des établissements de soin peuvent être des réservoirs des agents infectieux tel que les bactéries pathogènes et des germes multirésistants.

L'échec du traitement de ces effluents et le manque de service d'assainissement de base peuvent contribuer à la mise en place des voies de dissémination de ces micro-organismes et de leurs gènes de résistance dans l'environnement, ce qui nécessite de surveiller les effluents hospitaliers et d'adopter des mesures visant à empêcher cette diffusion.

Les résultats obtenus par la présente étude restent préliminaires, ils doivent être complétés et exploités par une série d'autres tests, beaucoup plus performants, à savoir :

- ❖ Détermination des concentrations minimales inhibitrices ;
- ❖ Réalisation de DD-test sur cloxacilline ;
- ❖ Identification approfondie des souches isolées et la confirmation des phénotypes de résistance probables par Les techniques de biologie moléculaires ;
- ❖ Estimation qualitatif et quantitatif des résidus d'antibiotiques dans les effluents hospitaliers ;
- ❖ L'extension de la zone de l'étude et l'augmentation du nombre de prélèvements pour une meilleure prévention de la dissémination ;

Enfin, nous pouvons dire que la maîtrise des mécanismes de résistance aux antibiotiques peut aider dans la recherche de nouvelles molécules antimicrobiennes, comme il convient aussi d'agir sur deux aspects : le bon usage des antibiotiques et la lutte contre la transmission croisée. Ainsi la mise en place des installations de traitement des eaux usées avant introduction dans le réseau général de collecte est nécessaire.

Références Bibliographiques

A

Ahoyo AT, Baba-Moussa L, Anago AE, Avogbe P, Missihoun TD, Loko F, Prévost G, Sanni A et Dramane K. (2007). Incidence d'infections liées à *Escherichia coli* producteur de bêta-lactamase à spectre élargi au Centre hospitalier départemental du Zou et Collines au Bénin. *Médecine et maladies infectieuses*. 37, 746–752.

B

Bellifa S, Hasseine H, M'hamdi I, Kara Terki I et Forestier CH. (2013). Détections of type 3 piliin *Klebsiella pneumonia* strains isolated from medical at the university hospital of Tlemcen. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences*. Vol 3.1-10.

Ben Hamed S, Kanoun F, Khcharem M, Rekik N et Ellouze F.(1988). Etude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif à l'hôpital de Sfax. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 115 à 117.

Boillot C, Bazin C, Tissot-Guerraz C, Droguet J, Perraud M, Cetre JC, Trepog D et Perrodin Y. (2008). *Science of The Total Environment*. 403, 113 – 129.

C

Callister SM et Agger WA. (1987). Enumeration and Characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* Isolated from Grocery Store Produce. *Applied and Environmental Microbiologie*. p. 249-253.

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

Chitnis V, Chitnis D, Patil S et Kant R.(2000). Hospital effluent: a source of multiple drug-resistant bacteria. *Current science*.79 ,989-991.

Conly J. (2002). Antimicrobial resistance in Canada. *Canadian Medical Association or its licensors*.167(8), 885-91.

Corvaglia AR. (2006). Rôle des résidus d'antibiotiques dans l'environnement hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres "*Aeromonas*", "*Acinetobacter*" et "*Legionella*". Thèse de doctorat. Université de Genève. Faculté des sciences. Département de botanique et de biologie végétale. p 246.

D

Diab AM, Al-Turk IM, Ibrahim MK et Al-Zhrany KD. (2008). Tracing of Gram-negative antibiotic resistant bacteria in hospitals final effluent at Al-Madinah Al Mounwwarah. Journal of Taibah University for Science. 1,23-34.

Diwan V, Tamhankar AJ, Khandal RK, Sen S, Aggarwal M, Marothi Y, Iyer RV, Tonderski KS et Lundborg CS. (2010). Antibiotics and antibiotic-resistant bacteria in waters associated with a hospital in Ujjain, India. BMC Public Health, 10:414.

E

Elmanama A, ElKichaoui Yet 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.

Engel HJ, Collignon PJ, Whiting PT et Kennedy KJ. (2009). *Serratia sp.* bacteremia in Canberra, Australia: a population-based study over 10 years. Microbiology and Infectious Diseases. 28, 821–824.

F

Fosse F, Giraud-Morin G et Madinier I. (2003). Phénotypes de résistance aux bêta lactamines dans le genre *Aeromonas* beta-lactam resistance phenotypes in the genus *Aeromonas*. Pathologie Biologie. 51, 290–296.

G

Galvin S, Boyle F, Hickey P, Vellinga A, Morris D et Cormican M. (2010). Enumeration and Characterization of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* Bacteria in Effluent from Municipal Hospital and Secondary Treatment Facility Sources. Applied and Environmental Microbiology. p. 4772–4779.

Gangoue Piebogi J. (2007). Caractérisation des β -lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université de Liège. 127p.

Grim CJ, Kozlova EV, Sha J, Fitts EC, Van Lier CJ, Kirtley ML, Joseph SJ, Read TD, Burd EM, grand BD, Joseph SW, Horneman AJ, Chopra AK et Shak JR. (2013). Caractérisation des *Aeromonas hydrophila* Wound Pathotypes par des analyses génomiques et fonctionnelles comparatives des gènes de virulence. Microbiologie. Vol.4 N°2.

Guardabassi L, Petersen A, Olsen J 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. Vol. 64, N° 9. p. 3499–3502.

H

Hamouche E, Sarkis DK. (2012). Évolution de la sensibilité aux antibiotiques de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* dans un CHU de Beyrouth entre 2005 et 2009. Pathologie Biologie. Vol.60 .p 15-20.

Hartemann P, Hautemaniere A, Joyeux M. (2006). La problématique des effluents liquides hospitaliers. In Hygiènes. Vol.12 – N°5.

J

Jacoby GA et Munoz-Price LS. (2005). The New β -Lactamases. The new England Journal of Medicine. 352:380-91.

Jarlier V, Nicolas MH, Fournier Get 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.

K

Korzeniewska E et Harnisz M. (2013). Beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in hospitals effluents. Journal of Environmental Management. 123, 1-7.

L

Lavigne JP, Sotto A, Merle C, Jourdan Soussy CJ et Sirot D. (2002). Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux bêtalactamines et prévalence en clinique. Pathologie Biologie. 50 : 388-93.

Lambert T. (1991). Mécanisme de résistance aux bêtalactamines. Pharmacologie et Thérapeutique. Journal de Pédiatrie et Puériculture. N° 4.

Lazăr V , Cernat R , Balotescu C, Cotar A , Coipan E, Cojocaru C. (2002). Beta-lactam resistance in aquatic *Enterobacter cloacae* strains using phenotypic and genotypic criteria. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol Subsets. 47 (3-4), pp. 185-91.

Leprat P. (1998). Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques ? 3ème Journée du Réseau Régional d'Hygiène de Basse-Normandie, CHU de CAEN.

M

Martin N, Mousset B, Duprez JN, Gregoire F, Hoyoux A, Linden A et Mainil J. (2007). Profils de résistance aux antibiotiques de souches d'*Enterococcus sp* et d'*Escherichia coli* isolées dans les matières fécales de sangliers et cervidés sauvages. Médecine Vétérinaire. 151, 55-60.

Maurin M, Musso D, Charrel R, Perez R, N'Guyen A, Dumon H et DeMico P. (1995). Résistance aux antibiotiques des bactéries hospitalières (bacilles à Gram négatif aérobie). Médecine et Maladies Infectieuses. 25, 508-514.

N

Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M et Timinouni M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. Médecine et maladies infectieuses 42 ,20-29.

P

Passerat J, Tamtam F, LeBot B, Eurin J, Chevreuil M et Servais P. (2010). Rejets hospitaliers d'antibiotiques et de bactéries fécales antibiorésistantes dans les rivières du bassin de la Seine. Eur. j. water qual.

Paterson DL et Bonomo RA. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. Clinical Microbiology Reviews. p. 657–686.

Paterson DL, MD, PhD. (2006). Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. Amj Infect Control. 5 Suppl 34:S20-8.

Philippon A et Arlet G. (2006). b-Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! Ann Biol Clin.Vol. 64, N° 1.

Philippon A, Arlet G et Jacoby GA. (2002). Plasmid-Determined AmpC Type β Lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.Vol.46. N°1. p1-11.

Pitout JDD, Nordmann P, Laupland KB et Poirel L. (2005). Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum b-lactamases (ESBLs) in the community. Journal of Antimicrobial Chemotherapy .56, 52–59.

Prado T, Pereira WC, Silva DM, Seki LM, Carvalho APD'A et Asensi MD. (2007). Detection of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumonia* in effluents and sludge of a hospital sewage treatment plant. Letters in Applied Microbiology.46,136-141.

R

Rodriguez-Villalobos H et Struelens MJ. (2006).Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. Réanimation 15, 205–213.

Roy PH. (1997). Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'oeuvre chez les bactéries. médecine/sciences. 13 : 927-33.

S

Scheftel TM, Weber M et le groupe français USI. (1994). Résistance à 16 antibiotiques de 3876 bacilles à Gram négatif aérobies isolés des 39 centres de soins intensifs en France. *Medecine et Maladies Infectieuses*.24, 255-62.

Schwartz T, Kohnen W, Jansen B et Obst U. (2003). Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater surface water and drinking water biofilms. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*. 43 , 325-335.

Seck R. (2005). Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'infections urinaires .Thèse de doctorat .Université cheikh Antadiop de Dakar, faculté de médecine , de pharmacie et d'odonto-stomatologie, département de pharmacie .73p.

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

Sougakoff W et Trystram D. (2003). Résistances aux β -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de Medecine Pierre Marie Curie. 78p.

T

Tagajdid MR, Boumhil L, Iken M, Adnaoui M, Benouda A.(2010). Etude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 40, 70-73.

V

Vieira CD, Roque de Carvalho MA, Amorim de Menezes Cussiol N, Alvarez-Leite ME, Gonçalves dos Santos S, Gomes RMF, Silva MX, Nicoli JR et Farias LM. (2011). Count, identification and antimicrobial susceptibility of bacteria recovered from dental solid waste in Brazil. *Waste Management*. 31, 1327–1332.

Vora S et Auckenthaler R.(2009). Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique ?. *Revue Médicale Suisse* 5 : 1991-4.

Y

Yala D , Merad AS , Mohamedi D et OuarKorich MN.(2001). Resistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb N°91.

Annexe I

Composition des milieux de cultures

(pour 1L de milieu de culture) (Le Minor et Richard, 1993)

Mac Conkey (Fluka)

Peptone	20g
Lactose	10g
sels biliaires	5g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neuter	0,075g
Agar	12g

PH 7, 4

Mueller Hinton (Conda)

Infusion de viande de bœuf	2g
Acide de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar bactériologique	17g

PH 7.4

Plate count agar (Himedia)

Hydrolysate enzymatique de caséine	5g
Extrait de levure	2.5g
Dextrose	1g
Agar	15g

PH 7

Composition des réactifs

Réactif de Kovacs

Alcool amylique	5g
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	75 ml
HCl pur	

Réactif de TDA

Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$	10ml
Eau distillée	20ml

Réactif VP1

α -naphtol	6g
Alcool à 90° (qsp)	100ml

Réactif VP II

NaOH 4N

Coloration de Gram

Violet de gentiane

Lugol

Alcool

Eau distillée

Fushine

Annexe II

Tbleau I : tableau de lecture de la galerie AP 20 E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenylgalactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / Immédiat	
			Jaune	Marron rougeâtre
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2 mn, maxi	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

Annexe III

Tableau II : Résultats de la galerie biochimique d'identification pour le prélèvement d'Azazga

Code	Espece	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	%
N 1	<i>Vibrio sp.</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	60,20%
N 2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	74,50%
N 3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	74,50%
N 4	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	77,30%
N 5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	99,50%
N 6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	86,80%
N 7	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	99,90%
N 8	<i>Enterobacter sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	64,50%
N 9	<i>Aeromonas sp.</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	50,20%
N 10	<i>Aeromonas sp.</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	98,70%
N 11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	75,40%
N 12	<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	92,70%
N 13	<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	92,70%
N 14	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	99,70%
N' 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	98,90%
N' 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	98,90%
N' 3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	97,50%
N'4	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	99,40%
N'5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	87,70%
N'6	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	85,20%
N'7	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	49,00%
N'8	<i>Aeromonas sp.</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	98,70%
N'9	<i>Aeromonas sp.</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	50,20%
N'10	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	98,30%
N'11	<i>Pseudomonas sp.</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	46,40%
N'12	<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	99,90%
N'13	<i>Citrobacter freundii</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	84%
N'14	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	89,40%
N'15	<i>Aeromonas sp.</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	99,90%
N'16	<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	92,70%
N'17	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37,20%
N'18	<i>Erwinia sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	80%

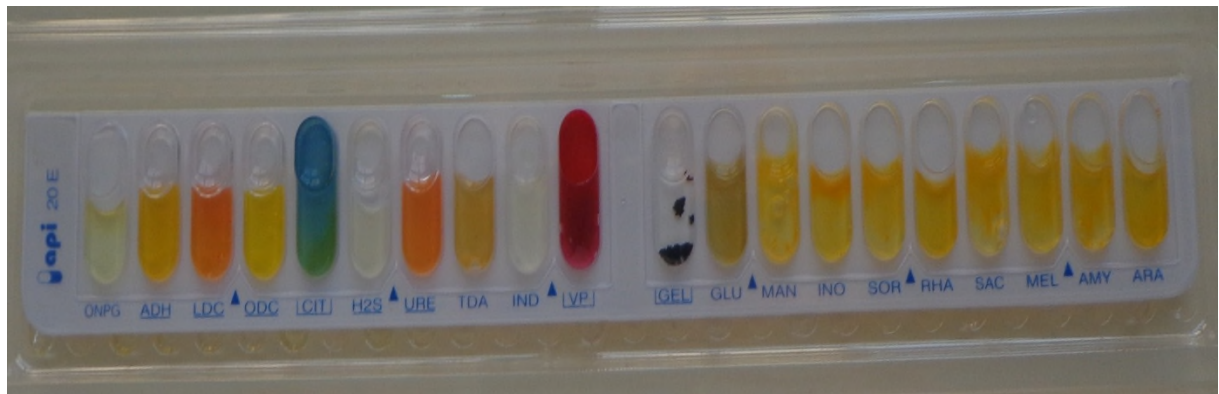


Figure 1: exemple de résultat d'identification par galerie API 20 E (*Klebsiella pneumoniae*)

Tableau III : Phénotypes de résistance pour les souches prélevées d'Azazga

Code	Especce	CAZ	FEP	AT	CTX	IPM	CX	TOB	CIP	CN	SXT	BLSE
N' 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	I	S	R	R	I	S	S	S	S	R	+
N' 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	S	I	S	S	I	S	S	/	R	+
N' 3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	I	R	R	S	S	S	I	R	R	+
N'4	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	+
N'5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	+
N'6	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+
N'7	<i>Aeromonas hydrophila</i>	R	S	S	R	S	I	S	R	S	R	+
N'8	<i>Aeromonas sp.</i>	R	S	R	R	S	R	S	S	S	S	+
N'9	<i>Aeromonas sp.</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	+
N'10	<i>Aeromonas hydrophila</i>	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	+
N'11	<i>Pseudomonas sp.</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	I	R	+
N'12	<i>Citrobacter freundii</i>	I	S	S	R	S	R	R	S	R	R	+
N'13	<i>Citrobacter freundii</i>	I	I	I	R	S	R	I	S	R	R	+
N'14	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	-
N'15	<i>Aeromonas sp.</i>	R	S	R	R	S	I	S	S	S	R	+
N'16	<i>Escherichia coli</i>	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	+
N'17	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	-
N'18	<i>Erwinia sp.</i>	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	+
N 1	<i>Vibrio sp.</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	+
N 2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	+
N 3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	I	R	S	R	S	R	S	S	S	R	+
N 4	<i>Enterobacter cloacae</i>	I	I	I	R	S	R	S	S	R	R	+
N 5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	+
N 6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	I	S	R	R	S	R	S	S	S	R	-
N 7	<i>Aeromonas hydrophila</i>	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	+
N 8	<i>Enterobacter sp.</i>	I	S	I	R	S	S	S	S	R	S	+
N 9	<i>Aeromonas sp.</i>	R	I	R	R	S	S	R	I	R	R	+
N 10	<i>Aeromonas sp.</i>	R	S	I	R	S	S	S	S	S	S	+
N 11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	I	R	R	S	S	S	S	R	R	+
N 12	<i>Escherichia coli</i>	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	+
N 13	<i>Escherichia coli</i>	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	-
N 14	<i>Aeromonas hydrophila</i>	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R	+

Annexe IV

Tableau IV Résultats de la galerie biochimique d'identification pour le prélèvement de Draa El Mizan

Code	Espec	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	%
F 1	<i>Pseudomonas sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	36,10%
F 2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	99,70%
F 3	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	49%
F 4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	50,10%
F 5	<i>Aeromonas sp.</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	98,30%
F 6	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	94%
F 7	<i>Non identifiée</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	N D
F 8	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	99,70%
F 9	<i>Non identifiée</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	N D
F 10	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	98,50%
F 11	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	58,80%
F 12	<i>Weeksella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30,30%
F 13	<i>Sphingobactérium sp.</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83,70%
F 1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	49%
F 2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	85,40%
F 3	<i>Serratia sp.</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	95,50%
F 4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	74,50%
F 5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	86,10%
F 6	<i>Vibrio sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	50,90%
F 7	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	85,20%
F 8	<i>Vibrio sp.</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	49,60%
F 9	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	99%

ND : non déterminé

Tableau V : Phénotypes de résistance pour les souches prélevées de Draa El Mizan

Code	Espec	CIP	CX	SXT	TOB	CAZ	CTX	AT	FEP	IMP	BLSE
F' 1	<i>Pseudomonas sp.</i>	S	R	S	S	R	I	I	S	R	-
F' 2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	I	R	S	R	R	R	S	S	+
F' 3	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	S	I	S	R	R	R	S	S	+
F' 4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	I	R	S	R	R	R	S	S	-
F' 5	<i>Aeromonas sp.</i>	R	I	S	S	R	R	R	S	I	+
F' 6	<i>Escherichia coli</i>	R	I	S	R	R	R	R	I	S	+
F' 8	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	I	S	S	R	R	R	S	S	+
F' 10	<i>Escherichia coli</i>	S	R	S	S	I	S	I	S	S	-
F' 11	<i>Aeromonas hydrophila</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-
F' 12	<i>Weeksella sp.</i>	S	R	I	S	R	R	R	S	R	-
F' 13	<i>Sphingobacterium sp.</i>	R	R	R	S	R	R	R	I	S	+
F 1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	R	S	S	R	R	R	S	S	+
F 2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	S	S	R	S	R	R	R	I	S	+
F 3	<i>Serratia sp.</i>	S	R	S	S	S	R	S	S	S	+
F 4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-
F 5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	R	S	R	S	I	S	S	S	-
F 6	<i>Vibrio sp.</i>	R	R	S	I	R	R	R	S	S	+
F 7	<i>Klebsiella oxytoca</i>	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-
F 8	<i>Vibrio sp.</i>	S	S	S	S	R	S	R	S	S	+
F 9	<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	I	S	S	S	R	S	S	S	-

Résumé

Notre étude est menée au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'université de Béjaia dans le but de caractériser la résistance des bacilles à Gram négatif isolés des effluents de deux Etablissements Publics Hospitaliers de la wilaya de Tizi Ouzou (Azazga et Draa El Mizan).

Dans cet objectif ; huit échantillons des eaux usées sont collectés à partir de différents services. L'isolement est effectué sur milieu Mac Conkey additionné de 2µg/ml de ceftazidime ou de 2µg/ml de ceftriaxone. L'identification des souches est réalisée par la galerie API 20E. Les souches isolées sont soumises à un antibiogramme standard selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques (les β-lactamines, les aminosides, les fluoroquinolones, et les sulfamides). La production de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) est détectée phénotypiquement par le test de synergie. L'étude a montré que la famille des *Aeromonodaceae* et d'*Enterobacteriaceae* sont les plus dominantes dans les échantillons analysés (20/52 et 19/52). Les résultats de la sensibilité aux antibiotiques ont permis de déterminer la multirésistance de ces bacilles à Gram négatif (34/52). Parmi les 52 souches identifiées, 39 ont présenté une image de synergie indiquant la production probable de BLSE.

Les effluents hospitaliers avec leur haute teneur en bactéries multirésistantes pourraient donc poser un grave problème pour la communauté.

Mots clés : résistance, bacilles à Gram négatif, antibiotiques, BLSE, effluents hospitaliers.

Abstract

Our study is conducted in laboratory of microbiology from the University of Bejaia with an aim of characterizing the resistance of the Gram-negative bacilli isolated from effluents of two Hospital of the wilaya of Tizi Ouzou (Azazga and Draa El Mizan).

For this purpose eight samples of wastewater are collected from the various services. Isolation is performed on Mac Conkey medium supplemented with 2µg/ml ceftazidime or 2µg/ml ceftriaxone, strains identification is performed by the API 20E. The isolated strains were subjected to a standard susceptibility to different families of antibiotics (the β-lactam antibiotics, aminoglycosides, fluoroquinolones, and sulfonamides) according to the Committee of the Antibiogram of the French Society of Microbiology. Production of extended- spectrum β-lactamase (ESBL) is detected by the double disc test.

The study showed that the family of *Aeromonodaceae* and *Enterobacteriaceae* are the most dominant in the samples analyzed (20/52 and 19/52). The results of the sensitivity of the Gram negative to the antibiotics identified their multidrug 34/52. Among these, 39 strains are producing ESBL.

Hospital effluents with their high content of resistant bacteria could there for epose a serious problem for the community.

Keywords: resistance, Gram-negative bacilli, antibiotics, ESBL, hospital effluents.