

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et  
De la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira -Bejaia-

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie  
Département de Microbiologie  
Option : Microbiologie Moléculaire et Médicale



Ref :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme  
**MASTER**

*Thème*

**Criblage d'isolats bacilles à Gram négatif résistant  
aux Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et aux  
carbapénèmes à partir d'effluents hospitaliers**

Présenté par :

M<sup>elle</sup> **CHENTA Nawal**  
M<sup>elle</sup> **TAIB Souhila**

Soutenu le : **25 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> SAIDANI.K,	MAA	Présidente
M <sup>me</sup> BELHADI.K,	MAA	Promotrice
M <sup>r</sup> LADJOUZI.Rd,	MAA	Examinateur

**Année universitaire : 2017/2018**

# *Remerciement*

*Nous tenons à remercier en premier lieu le bon dieu tout puissant qui nous a guidés dans le bon chemin de la science et de la connaissance, et qui nous à donne la volonté, le courage, et la patience pour accomplir ce travail.*

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, que ce soit par leurs conseils, soutien, et compréhension ;*

- ❖ Nous tenons à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.*
- ❖ Notre profonde remerciement et gratitude à notre promotrice M<sup>me</sup> Zenati.K pour l'encadrement scientifique le long de cette étude.*
- ❖ Nous présentons nos sincères remerciements à Mm RahmaniD. qui nous a aidé à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*À mes parents les plus chers, dont leur rêve était toujours de me voir réussir, pour leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études;*

*À mes chères sœurs Ikram et Aya*

*À mes chers frères Riad et Sofiane*

*À mes chers oncles, tantes cousins et cousines ;*

*À toute ma famille pour leurs soutiens tout au long de mon parcours universitaire ;*

*À mes très chères sœurs au Dieu, pour leur encouragement permanent, et leur soutien moral ;*

*À mon très cher binôme Souhila ;*

*A tous mes amis sans exception et ma promotion de MMM (2017-2018).*

*Enfin, à toute personne qui m'est chère au cœur et qui m'a aidé de près ou de loin.*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

***Nawal***

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué, leurs encouragements,  
leur soutien et surtout leur amour.*

*A mes chères sœurs: Kahina, Fazia, Katia, Tiziri*

*À mes très chères sœurs au Dieu, pour leur encouragement permanent, et leur  
soutien moral*

*A ma chère grande mère, mes tantes et mes oncles*

*Je dédie ce travail aux membres de l'Association des anciens scouts, groupe  
ZAMOUM Mohamed Boghni*

*A ma chère copine et mon binôme que j'adore Nawal*

*A tous mes amis sans exception et ma promotion de MMM (2017 - 2018)*

*A toutes les personnes que j'aime et qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.*

***Souhila***

## Liste des abréviations

<b>Code</b>	<b>Abréviations</b>	<b>Code</b>	<b>Abréviations</b>
<b>AK</b>	Amékacine	<b>ETP</b>	Ertapénème
<b>AMC</b>	Amoxicilline + acide clavulanic	<b>EUCAST</b>	European Commitee Of Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>Ampc</b>	Chromosomal locatedcephalosporinase	<b>FOX</b>	Cefoxitine
<b>ATB</b>	Antibiotique	<b>H<sub>2</sub>S</b>	Thiosulfate de Sodium
<b>ATM</b>	Aztréonam	<b>IMP</b>	Imipénème
<b>BGN</b>	Bacille à Gram Négatif	<b>KPC</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
<b>BLSE</b>	Bétalactamase à spectre étendu	<b>MBL</b>	Métallo β-lactamase
<b>BMR</b>	Bactéries multi résistante	<b>MEM</b>	Méropénème
<b>C2G</b>	Céphalosporine de 2 <sup>ème</sup> génération	<b>MH</b>	Muller Hinton
<b>C3G</b>	Céphalosporine de 3 <sup>ème</sup> génération.	<b>NR</b>	Nitrate Réductase
<b>CAZ</b>	Ceftazidime	<b>OXA</b>	Oxacillinase
<b>CIM</b>	Carbapenem Inactivation Method	<b>RM</b>	Rouge de méthyle
<b>CIP</b>	Ciprofloxacine	<b>TSI</b>	Three Sugar Iron
<b>CT</b>	Colistine	<b>TEM</b>	Timicilline
<b>CTX</b>	Céfotaxime	<b>TOB</b>	Tobramycine
<b>DD-test</b>	Double Disk-test	<b>URE</b>	Urée-indol
<b>E.P.E.I</b>	Eau Peptoné Exempte Indole	<b>VP</b>	Réactif de Voges-proskauer

## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : Méthode de prélèvement .....	07
<b>Figure 02</b> : Aspect des colonies sur chromagar .....	08
<b>Figure03</b> : Répartition des entérobactéries isolées par espèce .....	15
<b>Figure04</b> : Taux de résistance des entérobactéries isolés sur CTX aux $\beta$ -lactamine....	16
<b>Figure5</b> : Taux de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques .....	17
<b>Figure 06</b> : Résultat de test de synergie.....	17
<b>Figure 07</b> : Taux de résistance des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines.....	19
<b>Figure08</b> : Taux de résistance des non fermentaires aux $\beta$ -lactamines .....	20
<b>Figure 09</b> : Taux de résistance des BGN au différentes ATB .....	21
<b>Figure 10</b> :Test de synergie de la souche pneumo 09 ( <i>Enterobactercp</i> ), .....	21
<b>Figure11</b> : Résultat de test CIM.....	22
<b>Figure12</b> : Résultat du test à la Timocilline .....	22

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Tests d'identification biochimiques.....	09
<b>Tableau II</b> : Liste des antibiotiques testés.....	11
<b>Tableau III</b> : Répartition des souches par sites de prélèvement .....	14
<b>Tableau IV</b> : Répartition des souches selon test de synergie.....	18

## Abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

Introduction général.....	1
Matériel et méthodes	
I. Echantillonnage.....	7
II. Méthode de prélèvements.....	7
II.1. Prélèvement des eaux de rejets.....	7
II.2. Ecouvillonnage de la canalisation .....	8
III. Enrichissement, isolement et purification.....	8
III. Identification préliminaire.....	8
IV. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	10
V. Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	11
V.1. DD-test (Test de synergie).....	11
VI. Recherche de la production de Carbapénèmases .....	12
VI.1. Test CIM (Carbapénème Inactivation Méthode).....	12
VI.2. Sensibilité à la témocilline.....	12
Résultats	
I. Répartition des isolats par site de prélèvement .....	14
II. Répartition des souches isolées par espèce.....	15
III. Sensibilité des souches d'entérobactéries isolées sur CTX aux antibiotiques .....	15
III.1. Sensibilité des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines .....	15
III.2. Sensibilité des entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques.....	16
III.3. Détermination des phénotypes de résistances probables aux $\beta$ -lactamines.....	17
IV. Sensibilité des souches de BGN isolées sur MER aux antibiotiques .....	18

IV.1. Sensibilité des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines.....	18
IV.2. Sensibilité des BGN non fermentaires aux $\beta$ -lactamines .....	19
IV.3. Sensibilité des souches BGN aux autres familles d'antibiotiques .....	20
IV.4. Phénotypes de résistances probables aux $\beta$ -lactamines.....	21
Discussion.....	23
Conclusion et perspectives.....	27
Références bibliographiques	



# **Introduction**

Les hôpitaux sont de grands consommateurs d'eau potable. Cette importante consommation en eau donne naissance à de grands volumes de rejets liquides chargés en agents antimicrobiens ainsi que de microorganismes multirésistants (**Events et al., 2001**).

Ces volumes d'eau considérables assurent une dilution importante des nombreux effluents des services hospitaliers. Cette eau est utilisée pour les soins d'hygiène et le confort des patients et du personnel (Toilette, douche, WC, entretien des locaux), les eaux issues des services de soins, les eaux des services généraux (restauration, blanchisserie...), les eaux "médico-techniques" (hémodialyse, stérilisation...) et les eaux techniques non hospitalières (chaufferie, climatisation...) (**Leprat, 1998**).

Les effluents générés par les activités hospitalières peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement. Cela, compte tenu de la nature et de l'importance des substances qu'ils contiennent comme les résidus médicamenteux, les réactifs chimiques, les antiseptiques, les détergents, les révélateurs, métaux lourds (en particulier le mercure et l'argent) et fixateurs de radiographies. En plus des antimicrobiens utilisés pour le traitement des patients infectés, les effluents hospitaliers contiennent également des bactéries multi-résistantes ainsi que des virus et des champignons (**Evens et al., 2001 ; Ibrahim et al., 2010 ; Guessennd et al., 2013 ; Pal, 2017**).

Ces effluents sont évacués directement dans le réseau d'eaux usées de l'établissement hospitalier. Rien n'impose à l'hôpital au niveau réglementaire de traiter d'une façon spécifique ce type d'effluents, hormis les excréments et déjections des patients atteints de Maladie à Déclaration Obligatoire (décret du 10 Juin 1986, modifié en 1987, 1996 et 1998) de type entérique (Salmonellose, Shigellose, Choléra...), pour lesquelles le règlement sanitaire départemental recommande une désinfection (**CCLIN Paris-Nord, 1999**).

Les effluents liquides hospitaliers peuvent être classés en trois grandes catégories d'un point de vue qualitatif: le premier type inclut les rejets d'origine domestique qui regroupent les prélèvements et rejets destinés exclusivement à satisfaire les besoins des personnes physiques. Dans cette catégorie, on trouve : les rejets des cuisines, les rejets des produits détergents, les rejets des garages et ateliers, ceux de la blanchisserie, de la chaufferie et de la climatisation (**Darsy et al., 2002**).

Le deuxième type est celui des rejets de nature spécifique à l'hôpital : Ces rejets spécifiques communs aux différents services de soins sont les produits désinfectants et antiseptiques, L'hôpital rejette également des germes pathogènes issus des personnes malades (*Pseudomonas aeruginosa*...) qui peuvent se retrouver dans les eaux vannes en ayant

développé une résistance aux antibiotiques, ainsi que les rejets de germes pathogènes, les médicaments et les métaux lourds (mercure, argent) (**Jehannin et al., 1999**).

La troisième catégorie d'effluents est celle d'effluents spécifiques aux établissements de santé qui sont générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche. (**Deloffre-Bonnamour., 1995**). Certains services nécessitent l'utilisation de certains produits toxiques. C'est le cas : de l'hémodialyse (procédé lors duquel le sang du patient est épuré) qui rejette non seulement des toxines, mais également des produits chimiques (formol, eau de Javel...), du service de médecine nucléaire : ce service manipule des éléments radioactifs qui génèrent des déchets solides et liquides qui peuvent être susceptibles de dispersion (**Darsy et al., 2002**).

Les composés qui ont été retrouvés dans des prélèvements d'effluents hospitalier couvrent un nombre limité de différentes classes importantes d'antibiotiques. Ils comprennent principalement les macrolides, les aminoglycosides, les tétracyclines, sulfonamides et quinolones. Les  $\beta$ -lactamines sont retrouvés à des concentrations faibles comparées à celles attendues vis leurs utilisation extensive. On ne sait pas s'ils ne sont pas présents dans l'environnement aquatique en raison du clivage possible de l'anneau  $\beta$ -lactame ou si cette constatation est due au fait qu'ils n'ont pas été analysés ou à d'éventuelles lacunes et difficultés d'analyse (**Kummerer, 2003**).

Après l'administration, les antibiotiques à usage humain ou leurs métabolites sont excrétés dans l'effluent et atteignent la station de traitement des eaux usées (STP). Ces antibiotiques passent dans le réseau d'égouts et finissent dans l'environnement aquatique s'ils ne sont pas éliminés pendant le processus de purification (**Kummerer, 2003**). L'hôpital rejette également des germes pathogènes issus des personnes malades qui peuvent se retrouver dans les eaux vannes en ayant développé une résistance aux antibiotiques utilisés lors des traitements (**Darsy et al., 2002**). Un transfert des gènes de résistances peut ce faire entre les souches issues des patients et celle sélectionnées par la présence de concentration importante d'agents antimicrobiens (**Pal., 2017**). En conséquence, les effluents hospitaliers représentent une voie importante pour la dissémination des gènes de résistance et des bactéries résistantes aux antibiotiques à d'autres molécules dans l'environnement naturel (**Mairi et al., 2017**).

Certains services nécessitent l'utilisation de certains produits toxiques. C'est le cas : de l'hémodialyse qui rejette non seulement des toxines, mais également des produits chimiques (formol, eau de Javel...), conséquence de la désinfection de l'appareil. Les

effluents radioactifs peuvent avoir deux origines : les services de thérapie (médecine nucléaire) et les services de diagnostic (laboratoires). Enfin les effluents proviennent également des laboratoires et de la pharmacie (**Darsy et al., 2002**).

Les germes pathogènes que l'on trouve dans les eaux usées hospitalières peuvent être : des bactéries présentes dans les selles et les urines, ou des bactéries responsables d'infections nosocomiales (Staphylocoques, Streptocoques, *Pseudomonas*,...)(**Moulin et al., Giorand et al., 2013**). Sur le plan microbiologique, les effluents des établissements de santé seraient globalement moins chargés que les eaux usées urbaines en particulier par les entérobactéries (**Ibrahim et al., 2010 ; Silva et al., 2011**). Les travaux réalisés sur la microbiologie des effluents hospitaliers mettent en évidence de façon systématique la présence de bactéries ayant acquis des caractères de résistances aux antibiotiques et aux agent antimicrobiens (désinfectants, métaux lourds)(**Emmanuel et al Evens et al., 2001 ; Mairi et al., 2017**).

Les méthodes conventionnelles de traitement dans les stations d'épurations n'éliminent pas complètement les bactéries résistantes ainsi que les gènes de résistances ce qui confirme le rôle des effluents dans la dissémination des gènes de résistance en particulier aux carbapénèmes (**Nasri et al., 2017**). Ce constat a été rapporté pour des souches de bacilles à Gram négatif productrices de carbapénémases de type OXA-48 en Tunisie (**Nasri et al., 2017**), KPC au Brésil (**Picão et al., 2013**) et en chine (**Zhang et al., 2012**). Des souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE ont été également rapportées (**Silva et al., 2011**). Cette contamination est très hétérogène en fonction de l'heure, du jour, du prélèvement et des débits (**C-CLIN Paris Nord, 1999**).

Les  $\beta$ -lactames sont largement utilisés dans le traitement des infections courantes causées par les bacilles à Gram négatif à savoir les pneumonies, infections urinaires, ainsi que dans le traitement des infections graves et potentiellement mortelles telles que les septicémies (**Brolund, 2014**). Ces pathogènes ont résisté grâce à leur organisation membranaire qui favorise l'exclusion et l'efflux des antibiotiques et par une capacité remarquable à acquérir, transférer et modifier l'expression des gènes de résistance, dont ceux liés aux  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (ESBL), aux carbapénémases et à d'autres familles d'antibiotiques (**Livermore, 2012**).

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Cette résistance détermine les phénotypes « Sauvages » (Mayer et al. 2000). Par contre, La résistance acquise à un antibiotique n'est présente que chez certaines souches d'une espèce donnée. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou de l'acquisition de matériel génétique étranger (**Giedraitiene et al., 2011**).

Les mécanismes de résistance acquis aux b-lactamines sont de nature enzymatique ou non enzymatique. Le premier mécanisme non enzymatique chez les bactéries à Gram négatif est la diminution de perméabilité des porines de la membrane externe qui empêche la pénétration de l'antibiotique ou limite fortement sa concentration dans l'espace périplasmique. Le second mécanisme non enzymatique est la sélection d'une mutation qui aboutit à une hyperexpression d'un système d'efflux actif qui va permettre à la bactérie de rejeter davantage d'antibiotique dans le milieu extérieur. Enfin, la modification de la cible des b-lactamines (PLP) qui reste rare chez les bacilles à Gram négatif (**Cavallo et al., 2004**).

Les  $\beta$ -lactamases constituent le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux b-lactamines, en particulier chez les bacilles à Gram négatif (**Philippon et Arlet, 2006**). Ces enzymes d'inactivation sont distribuées selon la classification structurelle d'Ambler en 4 classes : A, B, C et D, basée sur la séquence en acides aminés. Les enzymes appartenant aux classes A, C et D sont des enzymes à sérine active et seule la classe B regroupant les métallo-b-lactamases (MBL) nécessitant les ions  $Zn^{2+}$  pour leur activité. La classification fonctionnelle, de Bush et Jacoby est basée sur le spectre de substrats préférentiels des enzymes et de leur profil d'inhibition (**Bush et al., 1995 ; Bush et Jacoby, 2010**).

Les carbapénémases appartiennent aux groupes A (KPC), B (NDM) et D (OXA) de la classification de Bush et Jacoby (2010). Bien que les carbapénémases de classe D à savoir les oxacillinasés, soit principalement décrites chez *A. baumannii* (OXA-23, OXA-24, OXA-58...), certaines ont été isolées d'entérobactéries, notamment OXA-48 (**Queenan et al., 2007**). Les enzymes de type KPC sont des carbapénémases plasmidique de classe A les plus fréquentes et les plus menaçantes, du fait de leur pouvoir de dissémination important aux siens de nombreuses espèces comme *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, et même *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (**Miriagou et al., 2003 ; Bratu et al., 2005 ; Villegas et al., 2007 ; Robledo et al., 2010**). Les enzymes de type NDM-1 ont été décrite pour la première fois chez les souches de *K. pneumoniae* et de *E. coli* en Indien en 2008 (Mathers et al., 2015). Depuis des souches d'*A. baumannii* et de *K. pneumoniae* productrices de NDM-1 ont été identifiées dans plusieurs pays du monde (**Djahmi et al., 2014**).

Les BLSE font partie du groupe 2be, c'est-à-dire qu'elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> génération et les monobactames, selon la classification de Bush-Jacoby-Medeiros (**Bush et Jacoby, 2010**). La situation

épidémiologique est marquée par la diffusion rapide de souches d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) de type CTX-M depuis le début des années 2000. Les années précédentes, d'autres EBLSE de type TEM et SHV préférentiellement portées par *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter spp.* diffusaient de manière épidémique au sein des structures hospitalières (**Lucet et Birgand, 2011**). Bien que les BLSEs soit décrites le plus souvent chez les entérobactéries (*K. pneumoniae* et *E. coli*), elles restent rarement rapportées chez les souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (**Tokajian et al., 2015**).

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif constitue un véritable défi en cela qu'elle conduit à des impasses thérapeutiques. Cette résistance peut être due à des mécanismes chromosomiques (altération de la porine OprD chez *Pseudomonas Aeruginosa*), à l'association de mécanismes de résistances ( $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE) et/ou céphalosporinase associée à une perte de la perméabilité membranaire chez les entérobactéries) ou à la production d'enzymes hydrolysant les carbapénèmes (**Grall et al., 2011**).

En Algérie la résistance aux antibiotiques indique une situation inquiétante. (**Baba Ahmed-kasiet al., 2014**). L'isolement de souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmes de type OXA-48 a été rapporté chez des patients hospitalisés à l'hôpital militaire à Constantine (**Agabou et al. 2014**), puis chez d'autres souches de *K. pneumoniae* et *E. cloacae* isolées de l'environnement hospitalier à l'hôpital de Guelma (**Bouguenoun et al., 2016**). Des souches d'*Acinetobacter baumannii* productrices de OXA-23 et NDM<sub>1</sub> d'origine clinique et environnementale (**Bakour et al., 2012 ; Mesli et al., 2013 ; Zenati et al., 2016**). La résistance aux antibiotiques ne se limite pas au milieu hospitalier et à pris de en milieu extra-hospitalier et constitue un ensemble hétérogène des mécanismes de résistance ainsi que les supports génétiques.

Actuellement, les BGN multirésistants présentent une dissémination dans différents compartiments de l'environnements à savoir, les eaux de rivières (**Tafoukt et al., 2017**), sur des végétaux crus (légumes et fruits) (**Touati et al., 2017 et Zekar-Mesbah et al., 2017**), dans les sandwich (**Yaici et al., 2017**) ou bien, ils sont hébergés par des animaux de compagnie (**Yousfi et al., 2016, 2017**) et animaux sauvage (**Brahmi et al., 2016 ; Bachiri et al., 2017**) ainsi que chez le poulet de chair (**Belmehdi et al., 2016**) et le coque reproductible (**Mezhoud et al., 2015**).

L'hôpital est un lieu où sont concentrées des personnes potentiellement porteuses de germes pathogènes et où peuvent se développer des infections nosocomiales. Il se pose alors la problématique de savoir si nos hôpitaux peuvent-être générateurs de bactéries multi résistantes aux antibiotiques .

Afin d'étudier les isolats bactéries Gram négatif résistantes aux C3G et aux carbapénèmes nous avons adopté la méthodologie suivante :

- ✓ Prélèvements des eaux usées et Ecouvillonnage de canalisation lavabo au niveau de trois structures hospitalières (Frantz Fanon, hôpital maternité, hôpital d'Oran et hôpital de Tizi-Ouzou).
- ✓ Isolement et identification des bacilles à Gram négatif sur milieu sélectif additionné de céfotaxime et de méropénème.
- ✓ Etude de la sensibilité des souches aux  $\beta$ -lactamines, quinolones, aminosides et colistine
- ✓ Détermination des phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines.

# **Matériel et méthodes**



### I. Echantillonnage

Notre étude a été réalisée durant la période allant de février à juin 2018 au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'Université A/Mira de Béjaia.

Des prélèvements de différents types d'effluents hospitaliers ont été récupérés dans trois structures hospitalières à savoir le CHU de Béjaia (hôpital Frantz Fanone, Maternité), l'hôpital de Tizi Ouzou et l'hôpital d'Oran. Ces prélèvements ont concernés les eaux de rejet (issus de la toilette des patients, toilette et lavage des mains du personnels, lavage du matériel, rejet des machines de dialyse...etc.) ainsi qu'un écouvillonnage de la canalisation des lavabos est réalisé afin de récupérer les résidus colmatés sur la paroi (**Annexe II**).

### II. Méthode de prélèvements

Soixante douze prélèvements d'effluents hospitaliers ont été récupérés utilisons deux méthodes.

#### II.1. Prélèvement des eaux de rejets

Un flacon stérile en verre de 200 ml a été introduit à l'intérieur de l'eau présente dans le siphon du lavabo (figure 1) ou bien placé directement à la tuyauterie de la machine ou du réservoir. Les échantillons d'eaux prélevées ont été étiquetés (date et site de prélèvement) puis transportés immédiatement au laboratoire de Microbiologie de l'université A/Mira de Béjaia.



**Figure 01:** Méthode de prélèvement de l'eau de rejet.

### II.2. Ecouvillonnage de la canalisation

Le prélèvement consiste à frotter en utilisant un écouvillon stérile la surface interne de la canalisation à fin de détacher les résidus et les bactéries collés à la paroi. L'écouvillon est immédiatement introduit dans un tube contenant 3 ml de bouillon nutritif puis transporté au laboratoire.

### III. Enrichissement, isolement et purification

Nous avonsensemencé 50 ml d'eau à analyser de chaque échantillon, dans 50 ml de bouillon nutritif. Les bouillons ainsi ensemencés et les écouvillons préalablement introduits dans le bouillon nutritif ont été incubés pendant 24h à 48h à 37°C.

A partir de cultures positives (observation d'un trouble), nous avonsensemencé une gélose Mac Conkey additionnée de méropénème à raison de 0,5 µg/ml pour la sélection des bacilles à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes, et de vancomycine à raison de 32 µg/ml pour l'élimination des Gram positifs.

La recherche des bacilles à Gram négatif résistant aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération a été réalisée sur gélose Mac Conkey additionnée de 4 µg/ml de céfotaxime et de 32 µg/ml de vancomycine.

Après incubation à 37°C /24h, les boîtes ont été examinées selon l'aspect des colonies et chaque type est repiqué sur gélose Mac Conkey jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

### III. Identification préliminaire

L'identification des souches de bacilles à Gram négatif (BGN) été basée sur les caractères cultureux (taille, couleur, aspect, contour des colonies), la coloration de Gram et une identification préliminaire sur milieu chromogène chromagar (CHROMagar TM Orientation), **Annexe I**



**Figure 02:** Aspect des colonies sur chromagar.

Les tests biochimiques clés réalisés pour l'identification des Bacilles à Gram Négatif sont représentés dans le tableau 02 (Le Minor et Richard, 1993). Pour les souches non fermentaire, d'autres tests ont été réalisés pour l'identification des souches *d'A. baumannii* à savoir la croissance à 44°C et la pigmentation en vert pour les souches de *P. aeruginosa*.

**Tableau I :** Tests d'identification biochimiques

Tests	Principe	Lecture
Fermentation des sucres, sur milieu TSI	Ensemencement à partir d'une suspension bactérienne de la pente par stries serrés puis le culot par piqure centrale. Incubation à 37°C/24h.	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Virage au jaune du culot : fermentation de glucose (+)</li> <li>➤ Virage au jaune de la pente : fermentation de lactose (+)</li> <li>➤ Apparition de bulle d'air : production de gaz</li> <li>➤ Noircissement du milieu : production d'H<sub>2</sub>S</li> </ul>
Utilisation de citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate de Simmons	Ensemencement par stries serrés de la pente avec une culture solide Incubation à 37°C de 24h à 7 jours.	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Un virage au bleu indique un test positif</li> </ul>
Recherche du nitrate Réductase sur bouillon nitraté	Ensemencement du bouillon à partir de la suspension bactérienne Incubation à 37°C/24h.	<p>Après l'ajout de NRI et NRII :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ coloration rouge : nitrate réductase (+)</li> <li>➤ Absence de coloration: Nitrate réductase (-)</li> </ul> <p><b>Ajout du zinc :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Nitrate réductase + : le milieu reste jaune</li> <li>➤ Nitrate réductase - : coloration rouge</li> </ul>

## Matériel et méthodes

Production d'indole sur milieu eau peptonée exempt de d'indole	Ensemencement du milieu avec la suspension bactérienne Incubation à 37°C/24h.	➤ Addition du réactif de Kovacs : l'apparition d'un anneau rouge: indole (+).
Recherche d'une uréase sur milieu urée-indol	Ensemencement du milieu à partir de culture solide. Incubation à 37°C/24h.	➤ Virage du milieu au rouge/rose : uréase (+).
Etude du types fermentaires sur milieu Clark et Lubs	Ensemencement du milieu par la suspension bactérienne Incubation à 37°C/24h.	On divise le contenu de tube en deux : ➤ Ajout de réactifs VPI puis VPII dans le premier tube, virage au rouge : VP(+). ➤ Ajout de rouge de méthyle (RM), coloration rouge : RM (+).

### IV. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été évaluée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l'European Comitee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2018).

A partir d'une culture de 18 à 24h, on réalise une suspension en dissociant 4 à 5 colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile pour un inoculum d'environ  $10^8$  UFC/ml (EUCAST, 2018).

Des boites Mueller Hinton ont été ensemencées par écouvillonnage et des disques d'antibiotiques appartenant à différentes familles ( $\beta$ -lactamines, quinolones, aminosides et polymexines) ont été déposés à l'aide d'une pince stérile . Les boites sont incubées pendant 24h à 37°C.

**Tableau II** : Liste des antibiotiques testés

Famille		Antibiotique	Symbole	Charge (µg)
Pénicillines		Amoxicilline+ acide clavulanique	AMC	30
		Timociline	TEM	30
Céphalosporines	C3G	Céftazidime	CAZ	30
		Céfotaxime	CTX	30
	C2G	Céfoxitine	FOX	30
Carbapénèmes		Imipénème	IMP	10
		Méropénème	MEM	10
		Ertapénème	ETP	10
Monobactames		Aztréonam	ATM	30
Aminosides		Tobramycine	TOB	10
		Amikacine	AK	30
Fluoroquinolones		Ciprofloxacine	CIP	5
Polymixines		Colistine	CT	30

On mesure à l'aide d'un pied à coulisse les différents diamètres des zones d'inhibitions obtenues autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation des résultats en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par l'EUCAST (2018) et (CA-SFM,2013)

### V. Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

#### V.1. DD-test (Test de synergie) :

Le test de synergie consiste à placer des disques de céfotaxime, céftazidime, céfépime et aztréonam à une distance de 20 mm centre à centre d'un disque amoxicilline-acide clavulanique. La présence probable d'une BLSE se traduit par l'apparition d'une image de

synergie entre les disques de Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération et/ou aztréonam et le disque d'augmentin® (Jarlier, 1988).

### VI. Recherche de la production de Carbapénèmases

#### VI.1. Test CIM (Carbapenem Inactivation Method)

Le test CIM est une nouvelle méthode phénotypique de détection des différents types de carbapénèmases (KPC, NDM, OXA-48, VIM, IMP et OXA-23) (**Vander Zwaluw et al., 2015**).

Le principe de la technique est résumé comme suit :

- 1- Préparer 03 Eppendorfs contenant 500µl d'eau physiologique stérile .
- 2- Faire suspendre dans le premier Eppendorf une ose de *E .coli* ATCC25922 sensible comme témoin négatif. Dans le deuxième, une souche productrice de KPC (*K. pneumoniae* Carbapenemase) comme témoin positif et dans le troisième la souche à tester.
- 3- Introduire dans chaque Eppendorf, un disque de meropénème (MEM) de 10µg (Cypress Diagnostic) puis incubé au minimum 2 heures
- 4- Après incubation, déposer les disques de MEM correspondant au témoin (+), témoin (-) et aux souches à tester sur des boîtes de Petri contenant de la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencées par la souche *E. coli* ATCC25922. Les boîtes sont par la suite incubées pendant 24h à 37°C. La lecture a été faite en mesurant les diamètres des zones d'inhibition et l'interprétation

en sensible, résistante et intermédiaire est réalisée selon les recommandations de l'EUCAST (2018).

#### VI.2. Sensibilité à la témocilline

La témocilline est identifiée comme un marqueur suggestif permettant de détecter les carbapénèmase de type OXA-48 qui confèrent une résistance de haut niveau. La résistance élevée à la témocilline n'est pas limitée aux à ces enzymes; les métallo-bêta-lactamases (MBL) et les KPC peuvent également être très résistants à la témocilline. Par conséquent, la résistance à la témocilline est considérée comme une confirmation phénotypique de l'OXA-48 seulement dans les cas où d'autres mécanismes de résistance au carbapénème sont exclus (Bakthavatchalam et al., 2016 ; Dandachi et al., 2016).

Un antibiogramme des souches isolées sur Mac Conkey additionné de méropénème (0.5µg/ml) a été réalisé en utilisant un disque de témocilline et un disque d'ertapénème. Après incubation à 37°C/24h, une souche est dite résistante si le diamètre de la zone d'inhibition est  $\leq 11$  mm et sensible s'il est  $\geq 12$  mm (Bakthavatchalam et *al.*, 2016).

# Résultats



### I. Répartition des isolats par site de prélèvement

Au terme de notre étude, 72 échantillons d'effluents hospitaliers ont été prélevés au niveau de 3 hôpitaux (CHU de Béjaia, hôpital de Tizi-Ouzou, hôpital d'Oran).

Après isolement, purification et identification 61 souches de bacilles à Gram négatif, dont 42 souches sont isolés sur CTX (entérobactéries) et 19 souches ont été isolées sur méropénème (13 sont des entérobactéries et 6 sont des non fermentaires) ont été caractérisées. La répartition des souches isolées par sites de prélèvements et représentée dans le tableau III :

**Tableau III** : Répartition des souches par sites de prélèvement

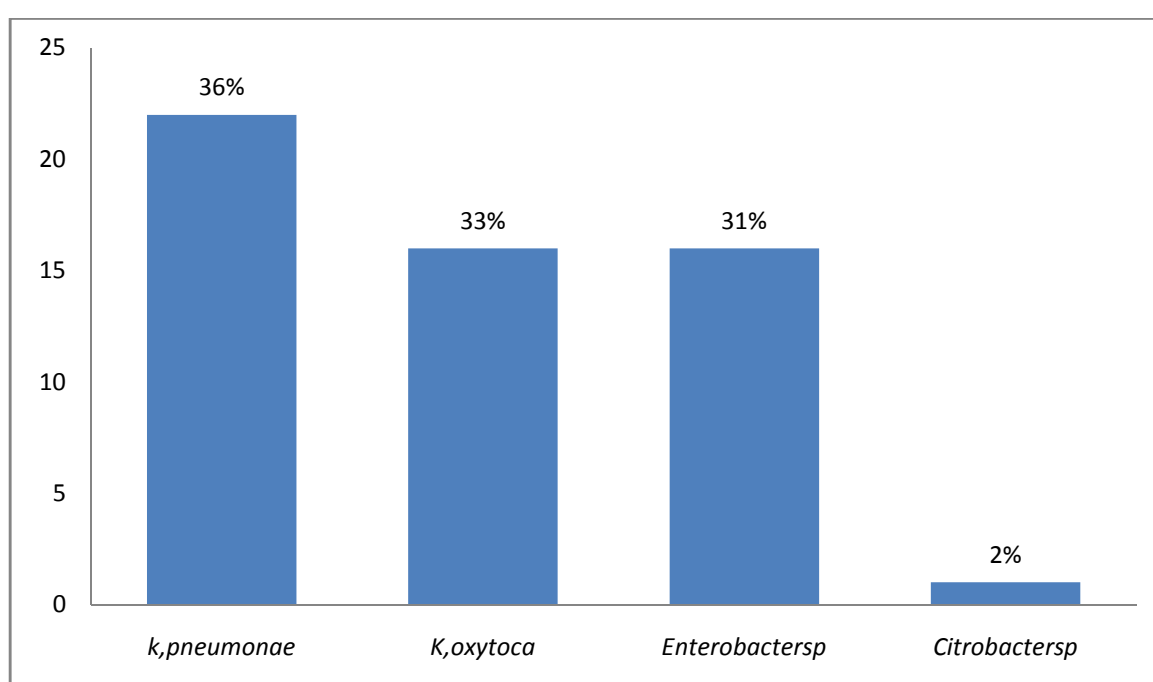
Sites de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre d'isolats isolés sur CTX	Nombre d'isolats isolés sur MER
Service hémodialyse	12	04	01
Service pneumo-phtisiologie	10	06	03
Service ORL	03	01	02
Service Maxilo Faciale	02	02	-
Laboratoire	04	-	01
Service maladies infectieux	11	06	07
Service maternité	20	15	03
Hôpital Oran Laboratoire	07	05	02
Hôpital Tizi-Ouzou Réanimation	03	03	-
Total	72	42	19

CTX : Céfotaxime

MER : Méropénème

## II. Répartition des souches isolées par espèce

Les 42 souches d'entérobactéries isolées sur milieux supplémenté de CTX sont appartenent majoritairement à l'espèce *K. pneumoniae* qui occupe la première place avec 15 (36%) souches, suivi de *K. oxytoca* avec 14 (33%) souches, et enfin *Enterobacter* sp. avec 13 souches (31%). Les 19 souches de BGN isolées sur MER appartiennent à deux groupes bactériens à savoir les entérobactéries ,avec *K. pneumoniae* qui occupe la première place avec 7 souches, suivi d'*Enterobacter* sp. avec 3, *K. oxytoca* avec 2 souches et enfin *Citrobacter* sp. avec 1 souche. Le deuxième groupe et celui des BGN non fermentaire avec 5 souches de *P. aeruginosa* et 1 souches d'*A. baumannii*.



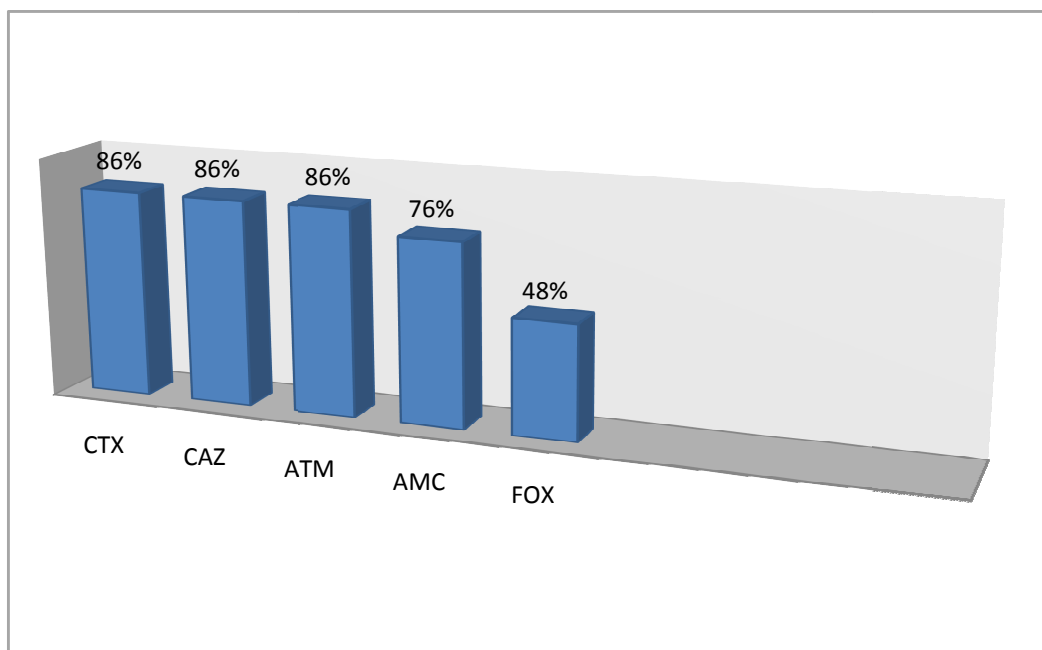
**Figure 03:** Répartition des entérobactéries isolées par espèce

## III. Sensibilité des souches d'entérobactéries isolées sur CTX aux antibiotiques :

### III.1. Sensibilité des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines

L'ensemble des 42 souches fermentaires isolées de différents prélèvements sur CTX ont été testées vis-à-vis de 05  $\beta$ -lactamines : Amoxicilline+acide clavulanique, Céfotaxime, Céfoxitine et l'Aztréonam. Les résultats sont indiqués dans l'annexe V

La figure ci-dessous illustre les taux de résistance des souches d'entérobactéries étudiées vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines. La quasi-totalité des souches (86%) sont résistantes vis-à-vis de CTX, ATM et CAZ. Une résistance à l'AMC est à la FOX est également remarquée avec 76% et 48% souches résistantes respectivement, dont 08 souche de klebsiellasp et 12 souche d'enterobacter sont résistante a la FOX .

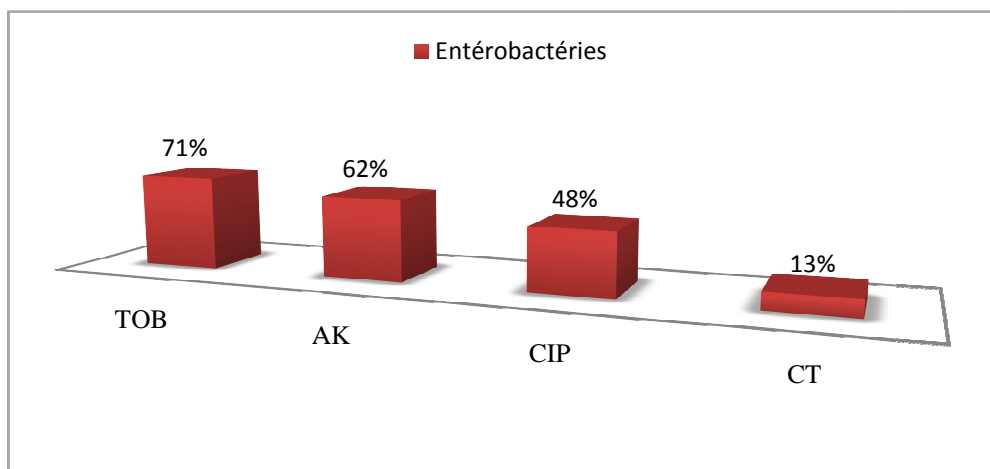


**Figure 04:** Taux de résistance des entérobactéries isolés sur CTX aux  $\beta$ -lactamines

### III.2. Sensibilité des entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques

L'ensemble des entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 03 familles d'antibiotiques: Aminocyclitol (Tobramicine et Amikacine), Polymyxine (Colistine) et Fluoroquinolone (Ciprofloxacine). Les résultats des antibiogrammes sont donnés dans l'annexe VI

D'après la figure 06, une résistance modérée est observée chez les souches d'entérobactéries vis-à-vis de la TOB et AK, CIP. La colistine reste l'antibiotique le plus actif contre ces souches.

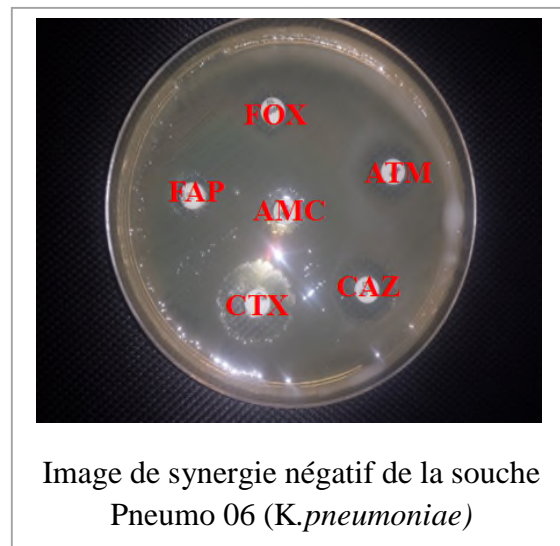
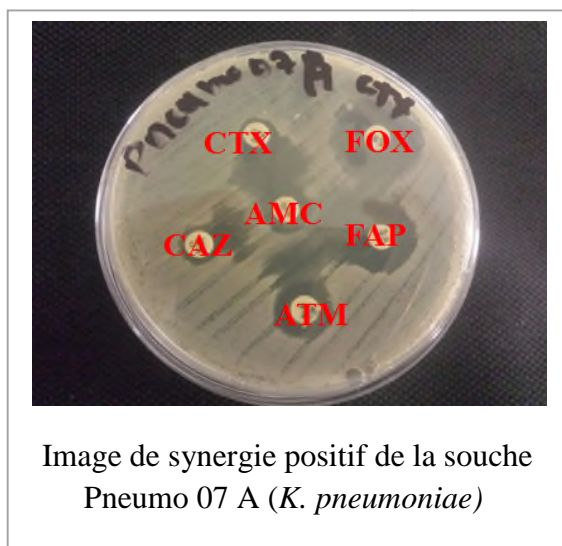


**Figure 05** : Taux de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques

### III.3. Détermination des phénotypes de résistances probables aux $\beta$ -lactamines

Le test de synergie réalisé sur les souches d'entérobactéries a révélé la production probable d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu chez 26 souches qui présentent un test de synergie positif (**Figure 07**). Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont présentés en

#### Annexe VII



**Figure 06** : résultat de test de synergie

**Tableau IV : Répartition des souches selon le test de synergie .**

caractères	Nombre de souches	Code des souches
<b>Image de synergie : BLSE+</b>	<b>26 souches</b>	DIA 06 ,DIA 09, DIA 11, PNEUMO01, PNEUMO03 PNEUMO03A, PNEUMO07A ,PNEUMO07B PNEUMO07C, ORL 03, MAX 01B, MAX 02 ,EI04, EI 06 A, EI 06 B, L 03 A, L 03 B, L 04 INF, M 01, M 03 ,M 06 A, G 04 A, G 04 C ,G 05 ,OR 07 B, OR 07 E
<b>BLSE -</b>	<b>16 souches</b>	DIA 04A , M 05 A ,M 05 B, M 05 C, M 06, M 06 B, M09 A,M09 B,G 03 A,G 03B, OR 07 A, OR 07 C, OR 07 D, PU A, PU B, SF

Les 19 souches n'ont pas présentés d'image de synergie et sont résistante à la FOX qui correspond à un marqueur phénotypique de la présence d'une céphalosporinase.

Deux hypothèses sont à prendre en considération. La première hypothèse que nous avons posée est que les souches dont l'image de synergie est absente sont de faux négatif. Un test à la cloxacilline peut monter une restauration de l'activité des C3G et des associations bêta-lactamamines + inhibiteur de bêta-lactamase (AMC) avec présence d'image de synergie en bouchon de champagne (BLSE+ céphalosporinase). La deuxième hypothèse est que le test à la cloxacilline inhibe l'action de la céphalosporinase (naturelle ou plasmidique) et permet donc le retour au phénotype sauvage de la souche testée.

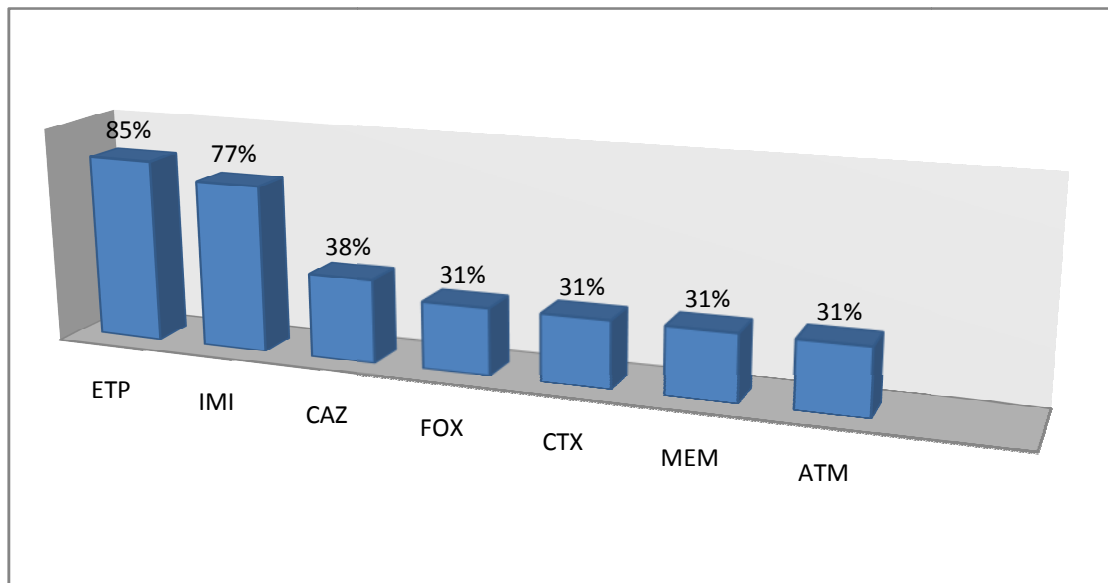
## **IV. Sensibilité des souches de BGN isolées sur MER aux antibiotiques**

### **IV.1. Sensibilité des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines**

L'ensemble des 13 souches fermentaires isolées sur MEM ont été testées vis-à-vis de 05  $\beta$ -lactamines : Amoxicilline+acide clavulanique, Céfotaxime, méropenème , imipinème, Céfoxitine et l'Aztréonam **Annexe VII**

La figure 08 illustre les taux de résistance des souches d'entérobactéries étudiées vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines. La quasi-totalité des souches (85%) est résistante à l'ETP, (77%) sont

résistante à l'IMI une résistance à la CAZ est remarquée également avec (38%), enfin une résistance à la FOX, CTX, MEM, ATM avec 04 souches .

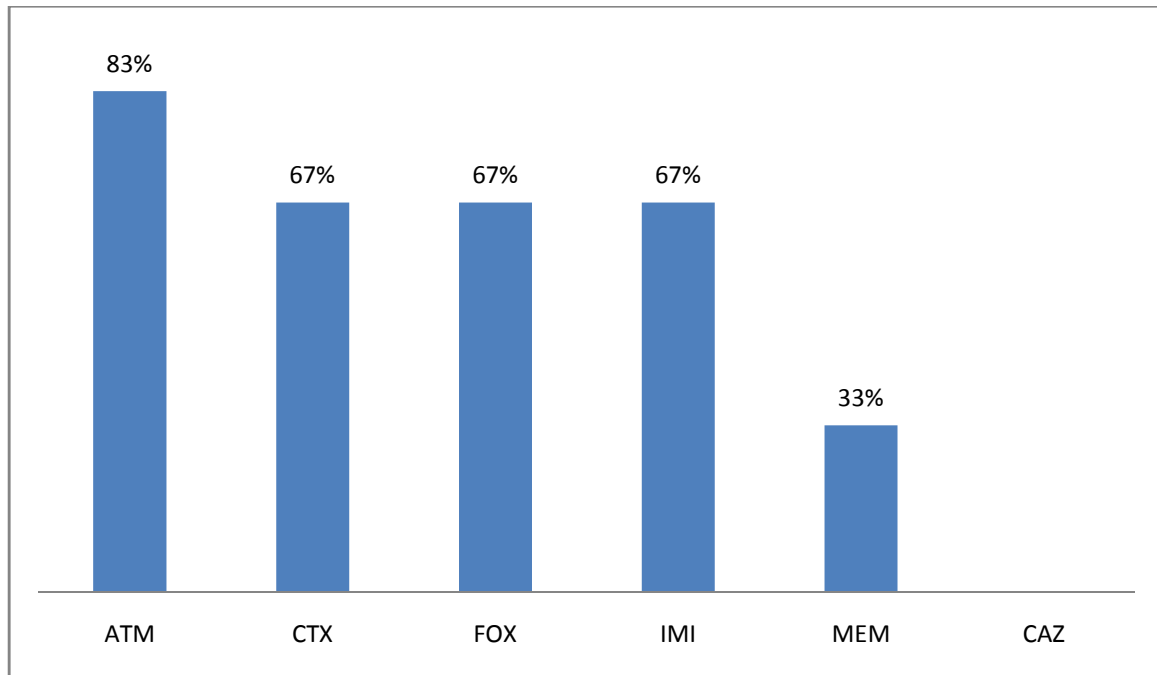


**Figure 07** : Taux de résistance des entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines

### IV.2. Sensibilité des BGN non fermentaires aux $\beta$ -lactamines

L'ensemble des 06 souches non fermentaires isolées de différents prélèvements ont été testées vis-à-vis de 06  $\beta$ -lactamines : Aztréonam, Céfotaxime, Céfotaxime, Céfoxitine Méropénème et l'Imipénème. Les résultats sont indiqués dans l'**Annexe VIII**

La figure 09 montre les taux de résistance des BGN non fermentaires vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines. La plupart des souches sont résistantes à l'aztréonam(83%). La résistance à l'imipénème, Céfotaxime, Céfotaxime est observée avec un taux important chez (67%) et (33%) souches résistantes à MEM. La CAZ reste l'antibiotique le plus actif contre ces souches.

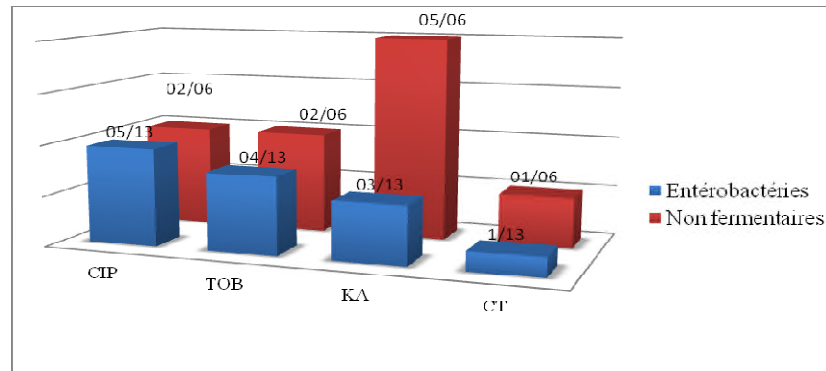


**Figure 08 :** Taux de résistance des non fermentaires aux  $\beta$ -lactamines.

### IV.3. Sensibilité des souches BGN aux autres familles d'antibiotiques

L'ensemble des BGN ont été testées vis-à-vis de 03 familles d'antibiotiques autres que les  $\beta$ -lactamines : aminosides (Tobramicine et Amikacine), polymixines (Colisistine) et fluoroquinolones (Ciprofloxacine). Les résultats des antibiogrammes sont donnés dans **l'annexe IX et X**

Les taux de résistance des souches isolées à ces antibiotiques sont illustrés dans la figure 10. D'après la figure 10, une résistance un peu modérée est observée chez les souches BGN non fermentaires vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques : TOB, CT, CIP, et AK. Chez les souches BGN entérobactéries des taux plus faibles sont rapportés vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques comparés aux non fermentaires .

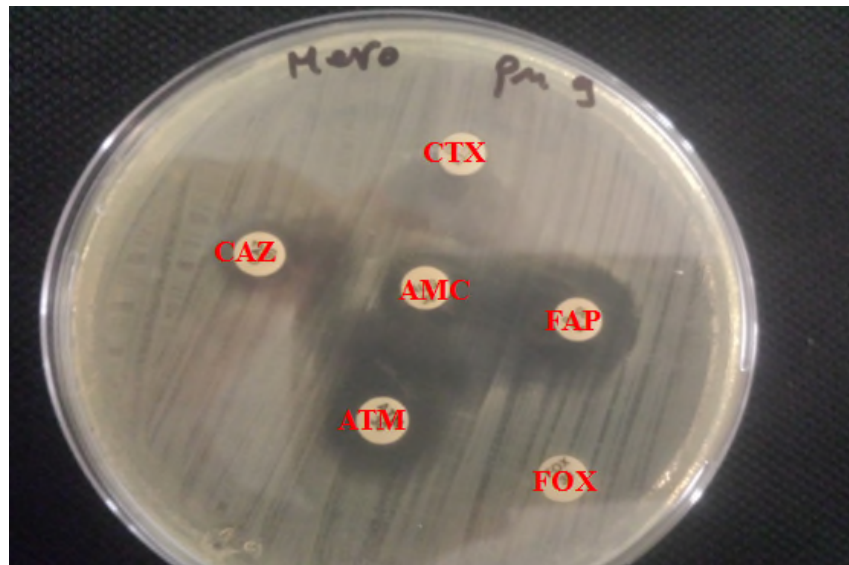


**Figure 09:** Taux de résistance des BGN au différentes ATB

#### IV.4. Phénotypes de résistances probables aux $\beta$ -lactamines

##### ➤ Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les résultats du test de synergie réalisé sur les souches BGN isolées sur MER, ont révélé la production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu chez 02 souches (test de synergie positif pour les souches qui portent les codes suivant : pneumo 09 et M07A) (**Figure 13**).



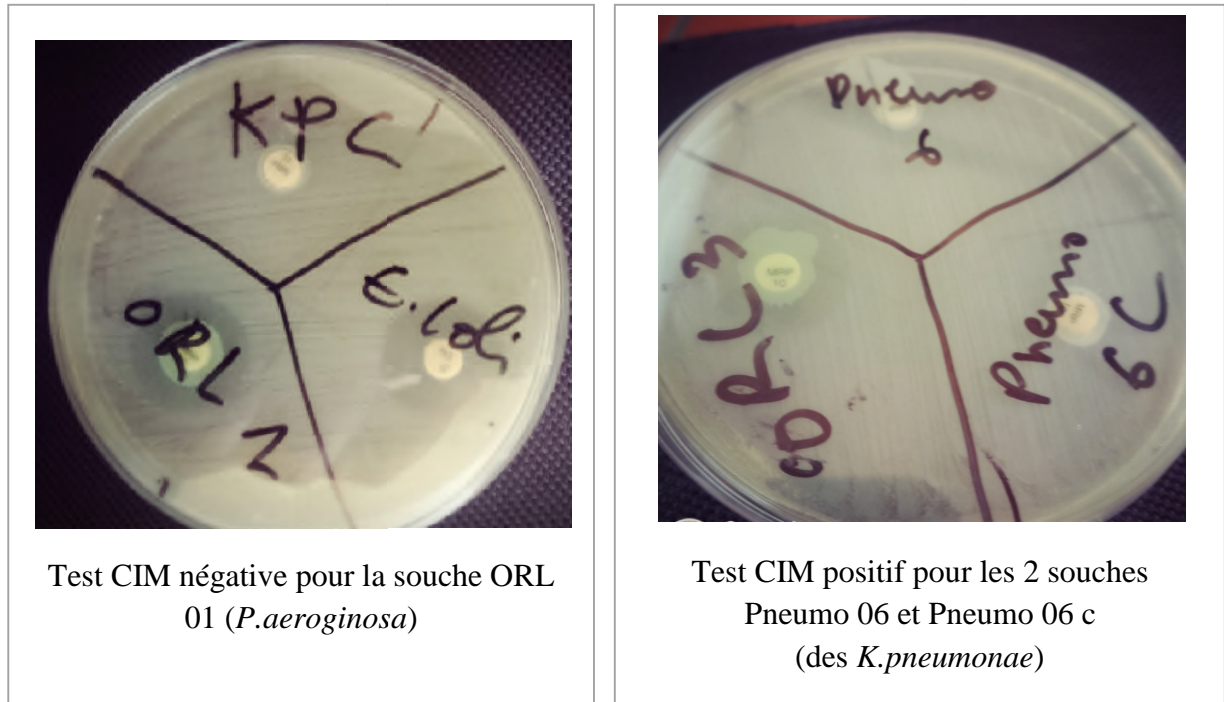
**Figure10:** Test de synergie positif de la souche pneumo 09 (*Enterobacter* sp.).

Les souches non fermentaire sont des BLSE-  
 Parmi la totalité des souches testés, 04 souches d'entérobactéries sont résistantes à la FOX, elles sont probablement productrice d'Ampc.



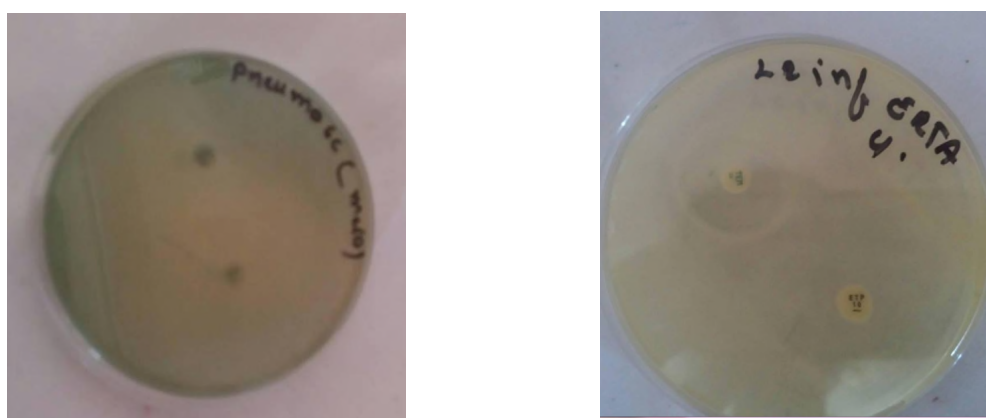
### ➤ Recherche de la production de la Carbapénèmase

Les résultats de test CIM ont révélés que 02 souches parmi les 18 souches résistantes aux carbapénèmes sont probablement productrices de carbapénèmases



**Figure11:** Résultat de test CIM

Le test à la timocilline nous a montré que 15% souches sont résistantes a la Timociline et a l'ertapeneme (elles sont peut être de type OXA48) , les autres souches sont sensibles à la Timociline .



**Figure12:** Résistance à la Timociline



# **Discussion**

### Discussion

Un totale de 61 souches de bacille à Gram négatif ont été isolées de différents types d'effluents hospitaliers collectés au niveau des trois structures hospitalière (CHU Bejaia, hôpital de Tizi-Ouzou et hôpital de Oran). 42 souches ont été isolées sur milieu Mac Conky additionnée de 4µg/ml de CTX appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (100%) (*K. pneumoniae*, *Enterobacter sp.*). Par contre, 19 souches ont été isolées sur le même milieu additionnée de méropénème dont 68% (13) appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp...*) et 32 % (05) font partie des bacilles à Gram négatif non fermentaires (*P. aeruginosa* et *A. baumannii*).

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés en Afrique (Algérie, Maroc, Côte d'Ivoire et Benin) et en Europe (Espagne et France), qui ont mis en évidence une flore bactérienne résistante dans les effluents hospitaliers principalement par les bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (principalement *Klebsiella sp*) et des *Pseudomonaceae* (*Pseudomonas aeruginosa*) (Marisol et al., 2000; Jeannette et al., 2007; Atef et al., 2008 ; Ekhaïse, 2008; Ameziane et al., 2012 ; Guessennd et al., 2013). Le même constat a été rapporté par une étude réalisée en 2016 sur les effluents hospitaliers au niveau du CHU de Khelil Amrane de Bejaia (Hezouat et Khane, 2016). Cette flore est composée principalement de la flore des malades, du personnel et de celle de l'environnement hospitaliers (sols, surfaces, matériels, eau et air) (Guessennd et al., 2013).

Les infections causées par des bactéries à Gram négatif constituent une préoccupation majeure dans les établissements de soins de santé ainsi que dans la communauté en général. Les principales bactéries à Gram négatif causant des infections sont *E. coli* et *K. pneumoniae* parmi les entérobactéries ainsi que *P. aeruginosa* et *A. baumannii* parmi les bactéries non-fermentaires (Vallée et al., 2015). En plus de *S. aureus*, ces bactéries ont été retrouvées dans les effluents hospitaliers et présentent une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques (bêta-lactamines, aminosides et fluoroquinolones) (Guessennd et al., 2013). Des travaux nationaux et internationaux ont rapportés la contamination par des souches d'*A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* multirésistante isolées de l'environnement hospitalier proche des patients et du personnel (surfaces, lavabo, robinet, chasse d'eau et de matériel médicale). Ces souches ont une capacité de survie qui peut durer des mois sur des surfaces inanimées et sont fréquemment isolées des patients atteints d'infections nosocomiales (Touati et al., 2010 ; Zenati et al., 2016).

Les souches de *P. aeruginosa* sont plus dominantes dans les eaux usées hospitalières (plus de 10 fois supérieur) que les eaux usées urbaines (**Schlosser, 1999**). Nous avons isolé une souche d'*A. baumannii*. Ces espèces sont rapportées par **Guessennd** et ses collaborateurs en 2013 à partir des effluents hospitaliers d'un CHU au Côte d'Ivoire.

Sur le plan microbiologique, les concentrations en microorganismes sont plus faibles dans les effluents hospitaliers que dans les effluents urbains, ce qui est probablement lié à des concentrations plus élevées en désinfectants, métaux lourds et antibiotiques (**Lepart, 1999 ; Darsy et al., 2002 ; Haartemann et al., 2005**). Ce constat peut expliquer le faible nombre de bacilles à Gram négatif présence dans les échantillons analysés mais aussi l'utilisation de milieux additionnés d'antibiotiques (CTX et Méropénème) participe également à cette réduction.

Le système le plus indiqué pour l'évacuation des eaux usées d'une structure de soins est le raccordement à un système d'égout bien conçu et performant, qui doit être lui-même relié à une usine de traitement. Les eaux vannes (Lavabo) doivent être déversées dans une fosse septique, et les effluents dirigés vers une fosse de décantation ou un fossé d'infiltration (**OMS, 2010**). Les procédés actuels de traitement des effluents, et opérés par des STEP à boue activée qui ne limitent pas suffisamment les concentrations bactériennes, et des quantités non négligeables des gènes de résistance peuvent atteindre quotidiennement l'environnement (**Stalder, 2012**).

Les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) et les carbapénèmes font partie des  $\beta$ - lactamines ayant le plus large spectre d'action à l'égard des bactéries à Gram négatif. En effet, les C3G sont utilisées dans le traitement des infections nosocomiales graves et les carbapénèmes sont utilisées en thérapie empirique ou comme traitement contre des infections causées par des bactéries déjà résistantes aux C3G (**Cavallo et al., 2004 ; Nordmann, 2010 ; Ghafourian et al., 2015**).

La situation épidémiologique est marquée par la diffusion rapide de souches d'entérobactéries productrices de BLSE de type CTX-M depuis le début des années 2000 (**Lucet et Birgand, 2011**).

Des études ont rapportées au Nord de l'Algérie, la prédominance de BLSE de type CTX-M-3 et CTX-M-15 et cela à Tlemcen, Oran, Alger, Béjaia, Tizi-Ouzou, Sétif,

Constantine et Annaba (**Gharout-Sait et al. 2012 ; Iabadene et al. 2009 ; Meradi et al. 2011; Messai et al. 2008 ; Naas et al. 2005 ; Bouguessa et al. 2006**). Des BLSEs de type STV-26, CTXM-15 et CTXM-14 ont été rapportées seul ou en association avec une carbapénèmase (**Galler et al., 2013**). Mais malheureusement, aucune étude n'a été consacrée aux entérobactéries productrices de BLSE émergents dans les effluents rejetés par les hôpitaux en Algérie.

La recherche de la production de carbapénèmase a montré que le test CIM est positif pour 02/12 souches seulement (*K.pneumoniae*) ce qui confirme la production d'une carbapénèmase. La résistance aux carbapénèmes (imépinème etertapénème) est due à la production d'enzymes de types carbapénèmases regroupées en 3 classes: les carbapénèmases de type oxacillinase (classe D), de métallo- $\beta$ -lactamases (classe B), et des carbapénèmases de (classe A) (**Kempf et Rolain, 2012**). La résistance à la timocilline peut confirmer la production d'une OXA-48 comme la rapporté **Dandachi** et collaborateurs (2016). Ces enzymes ont une dissémination mondiale pour inclure l'Europe, les pays méditerranéens et l'Afrique (**Nordmann et al., 2011 ; Djahmi et al., 2014**). La présence d'entérobactéries productrices de carbapénèmases de type KPC, OXA48 et NDM-1 ont été rapportées dans les effluents hospitalier (**Zhang et al., 2012 ; Picão et al., 2013; Nasri et al., 2017**).

Les souches résistantes aux carbapénèmes, test CIM négatif et sensible à la timocilline peut être expliqué par deux mécanismes impliquant tous deux des  $\beta$ -lactamases. Le premier mécanisme est associé à la production d'une céphalosporinase chromosomique et/ou plasmidique ou une BLSE avec une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des porine. Le second est lié à la production d'une  $\beta$ -lactamase à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes (**Nordmann et Carer, 2010**).

En ce qui concerne la résistance aux autres familles d'antibiotiques, une résistance modérée est observée chez les entérobactéries et les non fermentaires vis à vis de la Tobramycine, Amikacine et Ciprofloxacine. Ces résultats sont différents à ceux d'**Islam et al .2008**, qui ont trouvés dans leurs travaux sur les bactéries multirésistantes isolées des effluents hospitaliers une résistance marquée vis à vis de 5 familles d'antibiotiques avec une résistance de 100% à la ciprofloxacine (**Islam et al., 2008**).

L'observation de cette multi-résistance traduit bien la présence des BMR dans les effluents hospitaliers et à l'hôpital comme le montre les travaux de **Guessennd et al. 2008** et de Dadié et al en 2003. Cela pourrait s'expliquer d'une part par la pression de sélection

exercée par les praticiens et d'autres part par la présence de faibles concentrations d'antibiotiques non métabolisés rejetés par l'hôpital (**Guardabassi et al., 1998, Jeannette et al., 2007 ; Thomas et al., 2007**).

L'adhésion des microorganismes à la surface des matériaux est un phénomène assez rapide. Les microorganismes ainsi fixés sécrètent un ensemble d'exopolymères, pour aboutir à la colonisation du matériau. Le biofilm constitue une couche protectrice dans laquelle les bactéries sont à l'abri de l'action des produits chimiques et des désinfectants (**Hygiène hospitalière, 2008**). Cela peut expliquer la présence de bacilles à Gram négatif résistants sur la canalisation des lavabos comme rapporté **Herruzo** et collaborateurs (*K. pneumoniae* productrice d'OXA-48 et VIM dans les siphons des chambres de malade).

La contamination des siphons doit être traitée par l'utilisation de grande quantité de désinfectant.

# **Conclusion et perspectives**



### Conclusion et perspectives

Au cours de cette étude qui s'est déroulée au niveau du laboratoire de l'université de Béjaia, les résultats que nous avons obtenus montrent que les effluents hospitaliers (rejets de nature domestique, rejets spécifiques à l'hôpital, rejets spécifiques à certains soins) peuvent constituer un réservoir potentiel de bacilles à Gram négatif multirésistants aux antibiotiques.

Sur les 72 prélèvements effectués à partir des eaux de rejet et des canalisations des lavabos, 61 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées sur milieu additionné de CTX et méropénème répartie comme suit :

- 15 souches de *K. pneumoniae*, 14 souches de *K. oxytoca* et 13 souches d'*Enterobacter sp.* ont été isolées sur CTX (42 souches d'entérobactéries) ;
- 05 *P. aeruginosa* , 01 *A. baumannii*, 07 souches *K. pneumoniae*, 02 souches de *K. oxytoca* et une souche *Citrobacter sp.* ont été isolées et identifiées sur MEM .

L'étude de la résistance des souches *vis-à-vis* des antibiotiques testés a montré que :

- ✓ Les souches d'entérobactéries isolés sur méropénème présentent un taux de résistance élevée *vis-à-vis* des carbapénèmes testés dont. 10 souches sont résistantes à l'imipénème, 11 souches sont résistantes à l'ertapénème et 04 souches sont résistantes au méropénème. Par contre, seules 2 souches ont été caractérisées comme productrices de carbapénémases.
- ✓ La recherche de la production de BLSE a été mise en évidence chez 24 souches isolées sur CTX et 2 souches isolées sur méropénème.
- ✓ L'ensemble des bacilles à Gram négatif isolés sur CTX ainsi que sur MEM présentent une résistance modérée *vis-à-vis* des  $\beta$ -lactamines, quinolones et aminosides et restent sensibles *vis-à-vis* de la colistine.

Il ressort de cette étude que les effluents hospitaliers en Algérie sont largement contaminés par des bacilles à Gram négatif multirésistants qui sont impliquées dans les infections nosocomiales, contaminent le sol et les ressources en eau et causent des problèmes de santé publique.

Ces effluents rejetés sans traitement préalable dans la lagune peuvent constituer une source de dissémination de ces bactéries potentiellement pathogènes. La mise en place de station de traitement par les autorités est primordiale afin de réduire le risque sanitaire de ces

effluents hospitaliers. Cela pourra contribuer dans la limitation du risque de la dissémination des BMR et des gènes de résistance dans l'environnement.

Les résultats de notre étude restent préliminaires et méritent d'être complétés par :

- ✓ D'abord informer les professionnels de santé des enjeux que cause les bactéries multirésistantes, des substances antibactériennes ainsi que les gènes de résistances présentés dans les effluents hospitaliers pour l'environnement et la santé publique ;
- ✓ Elargir l'étude sur l'ensemble des pathogènes qui font l'objet de surveillance internationale de la résistance aux antibiotiques ;
- ✓ Comparer les souches isolées des effluents à celles isolées de l'environnement des patients et des infections nosocomiales pour déterminer leur origine ;
- ✓ La réalisation d'autres tests phénotypiques : test de synergie à la cloxacilline, Carba NP, test de Hodge, sensibilité à l'EDTA et acide boronique pour déterminer le type d'enzymes produites ;
- ✓ La détermination de l'efficacité de la mise en place de station d'épuration dans la désinfection des eaux usées hospitalières ;
- ✓ L'étude de la résistance des souches isolées des effluents à d'autres agents antibactériens autres que les antibiotiques.

**Références**  
**Bibliographiques**

### A

**Ameziane N. (2009)** : La problématique des déchets hospitaliers au niveau de la ville de Meknès (Maroc) entre gestion et impact sur l'environnement et la santé humaine. Fac. Sc. Meknès.

**Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F et Monteil, H. (2000).** Bactériologie clinique. Caractère généraux de *Staphylococcus aureus*. Ed. Ellipses paris. P 7-28.

### B

**Baba, Ahmed, K., Tai, Z et Arlet, G. (2014).** News of antibiotic resistance among Gram-negative bacilli in Algeria. *PathoBiol.* 62 : 169-178.

**Brahmi S., Touati A., Cadière A., Djahmi N., Pantel A., Sotto A., Lavigne J.P. et Dunyach-Remyal C. (2016).** First description of two sequence type 2 *Acinetobacter baumannii* isolates carrying OXA-23 carbapenemase in *Pagellus acarne* fished from the Mediterranean Sea near Bejaia, Algeria. *Antimicrob Agents Chemother.* **60** (4): 2513-5.

**Bakour S, Loucif L, Brunel JM, Touati A, Rolain JM.** Rapid identification of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a Modified Carba NP test. *J Med Microbiol.* 2015. 7 : 89-93.

**Belmahdi M., Bakour S., Al-Bayssari C., Touati A. et Rolain J.M. (2016).** Molecular characterisation of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Bejaia, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* **6**: 108-112.

**Bouguenoun W., Bakoura S., Bentorkic A.A., Al Bayssaria C., Merad T., et Rolain J.M. (2016).** Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma , Algeria : Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloaca*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* 7: 135-140.

**Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J.** Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp . *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49:776-8.

**Bush K. et Jacoby G.A. (2010).** Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**: 969-76.

**Brolund, A. (2014).** Overview of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* from a Nordic perspective. *Infection Ecology and Epidemiology.* 4: 1–9.

### C

**Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C. et Garrabé E. (2004).** Bêta-lactamines. *EMC-Maladies Infectieuses.* **1**: 129-202.

### D

**Darsy, Coralie., Lescure, Irene., Payot, Veronique et Rouland, Geraldine. (2002).** Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. OFFICE INTERNATIONAL DE L'EAU, Service National d'Information et de Documentation sur l'Eau. Web: <http://www.oieau.org>.

**Deloffre-Bonnamour N, 1995.** Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides. Mémoire de maîtrise - IUP Génie de l'Environnement - Ecodéveloppement - Université Claude Bernard - Lyon 1. Lyon: 75p.

**Djahmi N., Dunyach-Remy C., Pantel A., Dekhil M., Sotto A. et Lavigne J.P. (2014).** Epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *Biomed. Res. Int.* 1-11.

### E

**Emmanuel, Evens. (2004).** Evaluation des risques sanitaires etécotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat, INSA de Lyon.

**Evens E, Blanchard J.M, Keck G, Perrodin Y. 2001.** Caractérisation chimique, biologique et ecotoxicologique des effluents hospitaliers. *Revue francophone d'écologie industrielle* 2eme trimestre. 22 : 31-33.

### J

**Jarlier V., Nicolas M.H., Fournier G. et Philippon A. (1988).** Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae* : hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect. Dis.* **10**: 867-78.

**Jeannette, Munez-Aguayo., Kelvin, S., Lang., Timothy, M., Lapara., Gerald, Gonzalez et Randall, S. Singer., (2007).** Evaluating the Effect of Chlortetracycline

**Jehannin, Pascal. (1999).** Caractérisation et gestion des rejets liquides hospitaliers. Etude particulière de la situation du C.H. de Hyères (Var). (Mémoire de fin d'études). Ecole Nationale de la Santé publique.

### H

**Hezouat, S et Khane, A. (2016).** Criblage de souches de bacilles à Gram négatif résistantes aux  $\beta$ -lactamines isolées de l'environnement hospitalier du CHU de Khlil Amran de Bejaia. Mémoire de fin d'étude. Univ Bejaia.

### I

**Ibrahim M.K., Galal A.M., Al-turk I.M. et Al-zhrany K.D. (2010).** Antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria in hospitals' drain in Al-Madina Al-Munnawara. *Journal of Taibah University for Science.*3: 14–22.

**Islam, M. J., M. S. Uddin., M. A. Hakim., K. K. Das et M. N. Hasan. (2008).** Role of untreated liquid hospital waste to the development of antibiotic resistant bacteria. *J. Innov. Dev. Strategy.* 2 (2): 17-21.

### G

**Grall N, Andremont A, Armand-Lefèvre L.** Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? *J Anti Infect.* 2011 ; 16 : 1-16.

**Ghafourian S., Sadeghifard N., Soheili S. et Sekawi Z. (2015).** Extended Spectrum Beta-lactamases : Definition , Classification and Epidemiology. *Curr. Issues Mol. Biol.* **17**, 11–22.

**Guessennd et al. J. Appl. Biosci.** 2013. Étude des bacteries multiresistantes des effluents hospitaliers de la ville d, Abidjan

**Giedraitiene A., Vitkauskiene A., Naginiene R. et Pavilonis A. (2011).** Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. *Medicina (Kaunas)*. **47(3)**: 137–146.

### K

**Kempf I et Zeitoni S (2012).** Cout biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Path Biol.* **60**: 9-14.

**Kümmerer A. et Henninger A. (2003).** Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clin. Microbiol. Infect.*, **9**, 1203–1214.

### L

**Leprat P, 1999** Caractéristiques et impacts des rejets liquides hospitaliers. *Techniques hospitalières*, Vol. 634, pp. 56-57

### M

**Mairi A., Pantel A., Sotto A., Lavigne J.P. et Touati A. (2017).** OXA-48-like carbapenemases producing *Enterobacteriaceae* in different niches. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1-18.

**Mansotte, F et Jestin, E. (2000).** Les rejets liquides des établissements de santé : Caractérisation à la source et impact sur l'environnement marin côtier. Direction départementale des affaires sanitaires et sociales de la Seine Maritime, Agence de l'eau de la Seine Normandie. Synthèse réalisée et complétée sur la base du travail de Florence Merrant Lebrun. Centre hospitalier du Havre. Clin-Club Environnement, France.

**Marisol, G., Capdepuy, M., Arpin C., Raymond, N., Caumette, P et Quentin, C. 2000.** Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of river in *enterobacteriaceae* and *Aeromonas spp.* *Applied and Environmental Microbiology*. 66 (1): 125-132.

**Mohamed K. Ibrahim\*, Abdel-Moneim M. Galal, Idriss M. Al-Turk**

**Moulin G , Orand J-P.(2013)** . Antibiorésistance : quelle stratégie pour bl'ANMV à trois ans ? *Cah Rech Santé Environ Trav* .62-64.

**Mezhoud H., Boyen F., Touazi L.H., Garmyn A., Moula N., Smet A., Haesbrouck F., Martel A., Iguer-Ouada M. et Touati A. (2015).** Extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in broiler breeding roosters: Presence in the reproductive tract and effect on sperm motility. *Anim. Reprod. Sci.* **159**: 205-11.

### N

**Nordmann P, Carreer. (2010).** Entérobactéries productrices de carbapénémase, *Archives de pédiatrie, Hôpital de Bicêtre, France*. 17:S154-S162.

**Nordmann P., Naas T. et Poirel L. (2011).** Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg. Infect. Dis.* **17**(10) : 1791-1798

### O

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). 2010. Normes essentielles en matière de santé environnementale dans les structures de soins. 78p.

### P

**Pal C. (2017).** Effects of biocides and metals on antibiotic resistance: a genomic and metagenomic perspective. PhD thesis. University of Gothenburg. ISBN 978-91-629-0047-2.

**Paris-Nord-CCLIN, "Élimination des effluents liquides des établissements hospitaliers-Recommandations," Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Interrégion Paris-Nord, Institut Biomédical des**



*Cordelier: Ile de France, Picardie, Haute-Normandie, Nord Pas-de-Calais, Paris: 74p, 1999.*

**Philippon A. et Arlet G. (2006).** b-Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Ann. Biol. Clin.* **64** (1) : 37-51.

**Picão R.C., Cardoso J.P., Campana E.H., Nicoletti A.G., Petrolini F.V.B., Assis D.M., ... Gales, A. C. (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.

### Q

**Queenan AM, Bush K.** Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007; **20**: 440-58.

### R

**Robledo IE, Aquino EE, Santé MI, Santana JL, Otero DM, León CF, Vázquez GJ.** Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; **54**: 1354-7.

### S

**Schlosser. (1999)** : Exposition aux eaux usées et risques Microbiologiques.

**Stalder T. 2012.** Implication des effluents d'activités hospitalières et de la filière carnée sur la dissémination de l'antibiorésistance : dynamique des intégrons de l'émission au rejet. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 194p.

### T

**Tokajian S., Eisen J.A., Jospin G., Farra A. et Coil D.A. (2015).** Whole genome sequencing of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from a patient in Lebanon. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **5**(32):1-17.

**Touati A., Mairi A., Baloul Y., Lalaoui R., Bakour S., Thighilt L., Gharout A. et Rolain J.M. (2017).** First detection of *Klebsiella pneumoniae* producing OXA-48 in fresh vegetables from Bejaia city, Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **9**: 17-18.

### V

**Vallée M. 2015.** Résistance aux b-lactamines à large spectre chez les bactéries à Gram négatif épidémiologie et diagnostic. Maîtrise en microbiologie-immunologie. Université Laval.137P.

**Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP;** Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51:1553-5.

### Y

**Yaici L., Haenni M., Sarasi E., Boudehouche W., Touati A. et Madec J.Y. (2016).** *bla*<sub>NDM-5</sub>- carrying IncX3 plasmid in *Escherichia coli* ST1284 isolated from raw milk collected in a dairy farm in Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**: 2671-2.

**Yousfi M., Touati A., Muggeo A., Mira B., Asma B., Brasme L., Guillard T. et de Champs C. (2018).** Clonal dissemination of OXA-48-producing *Enterobacter cloacae* isolates from companion animals in Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **12**: 187-191

### Z

**Zenati, K., Touati, A., Bakour, S., Sahlic, F et Rolaina, J.M. (2016).** Characterization of NDM-1 and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in a hospital environment in Algeria. Multi-drug resistant Gram negative bacteria. 92 : 19-26.

**Zhang, X., Lü, X., & Zong, Z. (2012).** *Enterobacteriaceae* producing the KPC-2 carbapenemase from hospital sewage. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 73: 204–206

**Zhrany. (2008).** Tracing of Gram negative antibiotic-resistant bacteria in hospitals final affluent at Al-Mounwwarah. Journal of Taibah University for Science(JTUSCI) 1:23-34.

**Annexe I** Un ensemencement des souches pures sur milieu Chromogène a été effectué, après 24h d'incubation dans des conditions d'aérobiose à 37°C, les souches ont été identifiées selon leur apparence (**Tableau I**).

**Tableau 0I:** Aspects des colonies sur milieu Chromogène (fiche technique).

<b>Microorganisme</b>	<b>Apparence des colonies typiques</b>
<i>E.coli</i>	Rose foncé à rougeâtre
<i>Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia</i>	Bleu métallique (+/-violet)
<i>Proteus, Morganella, Providencia</i>	Colonies plates avec un halo marron
<i>Proteus vulgaris</i>	Bleu avec halo marron
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ttranslucide (+/ pigmentation naturelle couleur crème à vert)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaques
<i>Enterocoque</i>	Petites colonies bleus turquoises

**Annexe II:** Répartition des prélèvements par structure de soin, date de prélèvement ainsi que le Type et le nombre de prélèvements.

Date	Type de prélèvements		
28/02/2018	<b>Service hémodialyse Hôpital Frantz Fanon</b>	Eau de rejet	Ecouvillonnage de la canalisation lavabo
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau de rein artificiel,</li> <li>• Eau de rejet final de la machine de dialyse,</li> <li>• Eau de rejet du lavabo salle de soins,</li> <li>• Eau de l'appareil adoucisseur,</li> <li>• Rejet de l'osmoseur,</li> <li>• Rejet de lavage et stérilisation de la machine.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo 1 et 2 (salle de soins)</li> <li>• Lavabo 3 et 4 (salle d'eau)</li> <li>• Lavabo 5 (chambre du personnel )</li> <li>• Lavabo 6 (salle de consultation)</li> <li>• Lavabo 7 (salle d'eau médecin).</li> </ul>

<p><b>06/03/2018</b></p>	<p><b>Service pneumo-phtisiologie</b> <b>Hôpital Frantz Fanon</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo1 et lavabo 2 (salle de soins femme), Lavabo 3 (salle d'eau femme).</li> <li>• Lavabo1 (salle d'eau homme), Lavabo2 (salle de soins homme), l'eau de l'appareil de ponction (service homme).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo1 (salle de soins femme),</li> <li>• Lavabo 3 (salle d'eau femme).</li> <li>• Lavabo1 (salle d'eau homme)</li> <li>• Lavabo2 (salle de soins homme)</li> </ul>
<p><b>07/03/2018</b></p>	<p><b>Service ORL</b> <b>Hôpital Frantz Fanon</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo1 (salle de soins)</li> <li>• lavabo 2 (bureau médecin)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo1 (salle de soins)</li> </ul>
	<p><b>Service Maxilo Faciale</b> <b>Hôpital Frantz Fanon</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo du personnel</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo du personnel</li> </ul>
	<p><b>Laboratoire</b></p>	<p>.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lavabo du personnel,</li> <li>• Lavabo du rejet</li> </ul>

22/03/2018			<p>microbiologique (suspension bactérienne...)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo de rejet biochimique (sang, réactif, résidus...).</li> </ul>
23/03/2018	<p style="text-align: center;"><b>Service maladies infectieux Hôpital Frantz Fanon</b></p>	<p>Lavabo1 (salle de soins), lavabo 2 (salle d'eau patients), lavabo 3 (salle d'eau personnels), lavabo 4 (bureau médecin), lavabo 5 (salle d'eau médecin).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo1 (salle de soins)</li> <li>• écouvillon lavabo 2 (salle d'eau patients)</li> <li>• lavabo 3 (salle d'eau personnels),</li> <li>• lavabo 4 (bureau médecin),</li> <li>• (douche patients),</li> <li>• lavabo 6(cuisine).</li> </ul>
25/03/2018	<p style="text-align: center;"><b>Hôpital Maternité et Généologie</b></p>	<p>Lavabo 1 (chambre1 Maternité), lavabo 2 (salle d'accouchement Maternité), lavabo 3 (nurserie Maternité), lavabo 4 (bureau chef service Maternité), lavabo 5 (salle de soins Maternité), lavabo 1 et 2 (salle de soins Gynéco), lavabo 3 (chambre 1</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo 1 (chambre1 Maternité),</li> <li>• lavabo 2 (salle d'accouchement Maternité),</li> <li>• lavabo 3 (nurserie Maternité),</li> <li>• lavabo 4( bureau chef service Maternité)</li> <li>• lavabo 5 (salle de soins Maternité),</li> <li>• lavabo 1 et 2 (salle de soins Gynéco),</li> <li>• lavabo 3 (chambre 1 Gynéco)</li> <li>• lavabo 4( chambre 2 Gynéco),</li> </ul>

		Gynéco), lavabo4 (chambre2 Gynéco), lavabo5 (chambre3 Gynéco).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lavabo 5 (chambre 3 Gynéco).</li> </ul>
30/03/2018	<b>Hôpital Tizi ousou</b>	Lavabo1 (salle de soins urgence), lavabo2 (salle de soins réanimation), lavabo 3 (salle de consultation sage femme).	
01/04/2018	<b>Hôpital Oran</b>	Lavabo1 (salle de soins urgence), Lavabo2 (toilette des personnels), Lavabo3 (toilette des patients).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavabo1 (salle de soins urgence),Lavabo2 (toilette des personnels),Lavabo3 (toilette des patients),lavabo4 (laboratoire).</li> </ul>
			<b>TOTAL : 72</b>



## Annexes III : Phénotypes probables de résistance aux antibiotiques, souches isolés sur CTX :

Code de la souche	Espèce	Profil de la résistance	Synergie	Phénotype probable
DIA 04A	<i>k.pneumoniae</i>	CTX, AK,TOB.	-	/
DIA 06	<i>k.pneumoniae</i>	AMC,CTX,ATM,CAZ,AK,TOB	+	BLSE +
DIA 09	<i>k.pneumoniae</i>	AMC, CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
DIA 11	<i>Koxytoca</i>	AMC, CAZ, CTX, ATM, AK,CIP,TOB	+	BLSE +
PNEUMO01	<i>Enterobacter</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
PNEUMO03	<i>Enterobacter</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
PNEUMO03A	<i>Enterobacter</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
PNEUMO07A	<i>k.pneumoniae</i>	AMC, CAZ, CTX,ATM,CT,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
PNEUMO07B	<i>k.oxytoca</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,	+	BLSE + ,Céphalosporinase
PNEUMO07C	<i>Eenterobacter</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
ORL 03	<i>Enterobacter</i>	FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
MAX 01B	<i>Enterobacter</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
MAX 02	<i>Enterobacter</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
EI04	<i>K.oxytoca</i>	CAZ,CTX,ATM,CT,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
EI 06 A	<i>K.pneumoniae</i>	AMC,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
EI 06 B	<i>Enterobacte</i>	AMC,CAZ,CTX,ATM,AK,TOB	+	BLSE +
L 03 A	<i>K.oxytoca</i>	AMC,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
L 03 B	<i>K.oxytoca</i>	AMC,CAZ,CTX,ATM,AK,TOB	+	BLSE +
L 04 INF	<i>K.pneumoniae</i>	CAZ,CTX,ATM,CT,AK	+	BLSE +
M 01	<i>K.pneumoniae</i>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE + ,Céphalosporinase
M 03	<i>Enterobacter</i>	AMC,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
M 05 A	<i>K.oxytoca</i>	CAZ,ATM,CT,TOB	-	/
M 05 B	<i>K.oxytoca</i>	AMC,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	-	/
M 05 C	<i>K.pneumoniae</i>	AMC,CT,TOB	-	/
M 06	<i>K.oxytoca</i>	FOX,AK,CIP,TOB	-	Céphalosporinase
M 06 A	<i>K.pneumoniae</i>	CAZ,CTX,ATM,CT,AK,CIP,TOB	+	BLSE +
M 06 B	<i>K.oxytoca</i>	FOX,CT,TOB	-	Céphalosporinase

M09 A	<u>Enterobacter</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK	-	Céphalosporinase
M09 B	<u>Enterobacter</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM	-	Céphalosporinase
G 03 A	<u>Entzrobacter</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM	-	Céphalosporinase
G 03B	<u>k.oxytoca</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,CT	-	Céphalosporinase
G 04 A	<u>K.pneumoniae</u>	AMC,CAZ,CTX,ATM	+	BLSE +
G 04 C	<u>K.pneumoniae</u>	AMC,CAZ,CTX,ATM	+	BLSE +
G 05	<u>K.pneumoniae</u>	CT,TOB	+	BLSE +
OR 07 A	<u>K.pneumoniae</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM	-	Céphalosporinase
OR 07 B	<u>K. oxytoca</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM	+	BLSE + ,Céphalosporinase
OR 07 C	<u>K.oxytoca</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,CT	-	Céphalosporinase
OR 07 D	<u>K.oxytoca</u>	AMC,CT,CIP,TOB	-	/
OR 07 E	<u>K.oxytoca</u>	AMC,CAZ,CTX,ATM,CT	+	BLSE +
PU A	<u>Enterobacter</u>	AMC,CAZ,CTX,ATM,CT,AK,CIP,TOB	-	/
PU B	<u>Enterobacter</u>	AMC,FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,TOB	-	Céphalosporinase
SF	<u>K.pneumoniae</u>	FOX,CAZ,CTX,ATM,AK,CIP,TOB	-	Céphalosporinase

## Annexe IV : Phénotypes probables de résistance aux antibiotiques des souches isolés sur méropenème

Code de la souche	Espèce	Profil de la résistance	Synergie	Résistance a la timociline	CIM	Phénotype probable
DIA 04	<i>Citrobacter sp.</i>	FOX,CAZ,	-	S(29)	S(20)	Céphalosporinase
PNEUMO06	<i>K.pneumoniae</i>	FOX,CAZ,CTX,IMI,MEM,ATM, ,ETP	-	R	R	Carbapénèmase (peut être de type OXA48)
PNEUMO06C	<i>K.pneumoniae</i>	FOX,CAZ,CTX,IMI,MEM,ATM, ,ETP	-	R	R	Carbapénèmase (peut être de type OXA48)
PNEUMO 09	<i>Enterobacter sp.</i>	FOX,CAZ,CTX,ATM,	+	S (25)	S(21)	BLSE+ Imperméabilité
L 02 A	<i>K.pneumoniae</i>	IMI , ETP	-	S(25)	S (20)	NON interprétable
L 02 C	<i>K.pneumoniae</i>	IMI, ETP	-	S(25)	S (25)	NON interprétable
L 02D	<i>K.pneumoniae</i>	IMI, MEM ,ETP	-	S(25)	S (19)	NON interprétable
L 02E	<i>K. pneumoniae</i>	IMI ,ETP	-	S(25)	S (20)	NON interprétable
M 07 A	<i>K. pneumniae</i>	CAZ,CTX,IMI,ETP	+	S(30)	S(21)	Imperméabilité + BLSE
M 07 B	<i>Enterobacter sp.</i>	IMI,ETP	-	S(25)	S(24)	NON interprétable
M 07 C	<i>K. oxytoca</i>	ETP	-	S(25)	S(21)	NON interprétable NON interprétable NON
Or 02 a	<i>K. oxytoca</i>	IMI,MEM,ETP	-	S(25)	S(20)	interprétable NON interprétable
Or 02 b	<i>Enterobacter sp.</i>	IMI,CT,ETP	-	S(25)	S(20)	NON interprétable
ORL 01	<i>P. aeruginosa</i>	MEM,ATM,	-	NTNT	S(19)	NON interprétable
ORL 03	<i>P. aeruginosa</i>	IMI,MEM,ATM,	-	NT	S(19)	NON interprétable
Lavabo 04	<i>P. aeruginosa</i>	ATM,	-	NT	S(25)	NON interprétable
L 02 INF mero	<i>A. baumannii</i>	IMI, ATM,	-	NT	S(20)	NON interprétable
L02 B 02	<i>P. aeruginosa</i>	IMI,ATM,KAAMC,ATM,	-	NT	S(20)S(25)	
L 02 INF mc	<i>P. aeruginosa</i>	AMC,ATM,KA	-			

**Annexe V:** Profil de résistance de souches isolées sur CTX (les entérobactéries) aux

β-lactamines

<b>Code</b>	<b>Espèce</b>	<b>AMC</b>	<b>FOX</b>	<b>CAZ</b>	<b>CTX</b>	<b>ATM</b>
<b>DIA 04A</b>	<i>K pneumoniae</i>	S	S	S	R	S
<b>DIA 06</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	S	I	R	R
<b>DIA 09</b>	<i>K.pneumoniae</i>	R	S	R	R	R
<b>DIA 11</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	R	R	R
<b>PNEUMO 01</b>	<i>enterobacter</i>	R	R	R	R	R
<b>PNEUMO 03</b>	<i>enterobacter</i>	R	R	R	R	R
<b>PNEUMO 03 a</b>	<i>enterobacter</i>	R	R	R	R	R
<b>PNEUMO 07 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	S	R	R	R
<b>PNEUMO 07 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	R	R	R	R
<b>PNEUMO 07 C</b>	<i>enterobacter</i>	R	R	R	R	R
<b>ORL 03</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	R	R	R
<b>MAX 01 B</b>	<i>enterobacter</i>	R	R	R	R	R
<b>MAX 02</b>	<i>enterobacter</i>	R	R	R	R	R

## Annexe VI: Profil de résistance des entérobactéries isolées sur CTX aux autres familles

Code	Espèces	CT	AK	CIP	TOB
<b>DIA 04 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	R	S	R
<b>DIA 06</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	R	S	R
<b>DIA 09</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	R	I	R
<b>DIA 11</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	R	I	R
<b>PNEUMO 01</b>	<i>enterobacter</i>	S	I	R	R
<b>PNEUMO 03 a</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	R	R
<b>PNEUMO 03</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	R	R
<b>PNEUMO 07 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	R	I	R
<b>PNEUMO 07 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	S	S	S
<b>PNEUMO 07 C</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	I	R
<b>ORL 03</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	S	R
<b>MAX 01 B</b>	<i>enterobacter</i>	S	S	R	R
<b>MAX 02</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	R	R
<b>EI 04</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	R	I	R
<b>EI 06 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	R	I	R
<b>EI 06 B</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	S	R
<b>L 03 A</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	I	R	R
<b>L03 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	I	S	R
<b>L04 INF</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	R	S	S
<b>M 01</b>	<i>k.pneumoniae</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
<b>M 03</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	I	R
<b>M 05 A</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	S	R
<b>M 05 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	I	I	R
<b>M 05 C</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	S	S	I
<b>M 06 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	R	R	R
<b>M06 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	S	I
<b>M 06</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	I	I	R
<b>M 09 A</b>	<i>enterobacter</i>	S	I	S	S
<b>M 09 B</b>	<i>enterobacter</i>	S	S	S	S
<b>G 03 A</b>	<i>enterobacter</i>	S	S	S	S
<b>G 03 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	S	S

---

---

<b>G 04 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>G 04 C</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>G 05</b>	<i>k.pneumoniae</i>	R	S	S	I
<b>OR 07 A</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>OR 07 B</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	S	S	S
<b>OR 07 C</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	S	S
<b>OR 07 D</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	I	I
<b>OR 07 E</b>	<i>k.oxytoca</i>	R	S	S	S
<b>P.U A</b>	<i>enterobacter</i>	R	I	R	R
<b>P.UB</b>	<i>enterobacter</i>	S	R	S	R
<b>S.F</b>	<i>k.pneumoniae</i>	S	R	I	R

## AnnexeVII : Profil de résistance d'entérobactéries isolées sur MEM aux autres familles

Code	Espèce	FOX	CAZ	CTX	IMP	MEM	ATM
<b>Dia 04</b>	<i>Citrobacter</i>	R	I	S	S	S	S
<b>Pneumo 06</b>	<i>K.pneumoniae</i>	R	R	R	R	R	R
<b>Pneumo 06 c</b>	<i>K.pneumoniae</i>	R	R	R	R	R	R
<b>Pneumo 09</b>	<i>Enterobacter</i>	R	R	R	S	S	R
<b>L2 A</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	R	S	S
<b>L2C</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	R	S	S
<b>L2D</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	I	R	S
<b>L2E</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	R	S	S
<b>M7a</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	I	I	R	S	I
<b>M7b</b>	<i>Enterobacter</i>	S	S	S	R	S	S
<b>M7c</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	S	S	S	S	S
<b>Or 02a</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	S	S	I	I	S
<b>Or 02 b</b>	<i>Enterobacter</i>	S	S	S	R	S	S

**Annexe VIII : Profil de résistance de l'entérobactérie isolée sur MEM aux  $\beta$ -lactamines**

<b>Code</b>	<b>Espèce</b>	<b>CT</b>	<b>AK</b>	<b>CIP</b>	<b>TOB</b>
<b>Dia 04</b>	<i>Citrobacter</i>	S	S	R	S
<b>Pneumo 06</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	R	I	R
<b>Pneumo 06 c</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	I	I	R
<b>Pneumo 09</b>	<i>Enterobacter</i>	S	R	R	R
<b>L2 A</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>L2C</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	R	S
<b>L2D</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>L2E</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>M7a</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	S
<b>M7b</b>	<i>Enterobacter</i>	S	S	S	S
<b>M7c</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	S	S	S
<b>Or 02a</b>	<i>k.oxytoca</i>	S	S	S	S
<b>Or 02 b</b>	<i>Enterobacter</i>	R	S	S	I



Annexe IX : Profil de résistance des souches non fermentaires vis-à-vis de  $\beta$ -lactamines

<b>Code</b>	<b>Espèce</b>	<b>CAZ</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>ATM</b>	<b>FOX</b>	<b>CTX</b>
<b>ORL 01</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
<b>ORL 03</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
<b>LAVABO 04</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
<b>L 2 INF MERO</b>	<i>Acinitobacter</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>L 02 B 02</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
<b>L2 INF mc</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>

**Annexe X** : Profil de résistance des souches non fermentaires aux autres familles d'antibiotiques :

<b>Code</b>	<b>Espèce</b>	<b>CT</b>	<b>TOB</b>	<b>CIP</b>	<b>KA</b>
<b>ORL01</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	S	S	S	R
<b>ORL03</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	S	S	S	R
<b>Lavabo04</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	S	S	S	I
<b>L 02 B</b>	<i>Acinetobacter sp</i>	R	R	S	R
<b>L02 inf méro</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	S	S	I	R
<b>L2 INF mc</b>	<i>Pseudomonas sp</i>	S	S	S	R

---

**Annexe XI****Réactifs utilisés****Réactifs de Kovacs**

- Alcool amylique ou isoamylique.....150ml
- P. diméthylaminobenzaldéhyde.....10ml
- Acide chlorhydrique concentré.....50ml

**Réactif Rouge de méthyle**

- Rouge de méthyle.....0.5g
- Alcool éthylique à 60%.....100ml

**Réactif de Voges-Proskauer (VP I)**

- $\alpha$  Naphthol.....6g
- Alcool éthylique à 90%.....100ml

**Réactif de Voges-Proskauer (VP II)**

- NaOH 4N

**Réactif de Griess I (NR I)**

- Acide paraculfanilique.....8g
- Acide acétique 5N.....11

**Réactif de Griess II (NR II) :**

- $\alpha$  Naphtylamine.....6g
- Acide acétique 5N.....11

**Composition des milieux de culture (g/l'eau utilisée)****Gélose Mac Conkey (pH 7.4)**

- Peptone.....20
- Lactose.....10

- Sels biliaires.....0.072
- Chlorure de sodium..... 05
- Agar.....12

**Gélose Mueller Hinton (pH 7.4)**

- Infusion de viande de bœuf.....300
- Hydrolysate de caséine.....17.5
- Amidon.....1.5
- Agar.....17

**Gélose TSI (pH 7)**

- Extrait de viande de viande de bœuf.....03
- Extrait de levure.....03
- Peptone trypsine.....20
- Chlorure de sodium.....05
- Citrate ferrique.....0.3
- Thiosulfate de sodium.....0.3
- Lactose.....1
- Glucose.....01
- Saccharose.....10
- Rouge de phénol.....0.05
- Agar.....12

**Milieu de citrate de Simmons (pH 7)**

- Infusion de sodium.....02
- Chlorure de sodium.....05
- Sulfate de magnésium.....0.2
- Phosphate mono ammoniac.....01
- Phosphate bi potassique.....01
- Bleu de bromothymol.....0.08
- Agar.....15

**Milieu VRBL (pH 7)**

- Peptone.....06
- Extrait de levure.....03
- Lactose.....10
- Chlorure de sodium.....03
- Mélange sel biliaire.....1.5
- Cristal violet.....0.002
- Rouge neutre.....0.03
- Agar-agar.....15

**CHROMagar Orientation medium :**

- Chromopeptone.....16,1
- Mélange chromogène.....1,3
- Gélose.....15

**Milieu Klark-lubs (pH 7) :**

- Peptone trypsine de viande .....05
- Phosphate bi potassique.....05
- Glucose.....06

**Bouillon nutritif (pH 7.7) :**

- Macération de viande.....01
- Peptone trypsine.....15
- NA Cl.....05

**Bouillon nitraté (ph=7) :**

- Infusion cerveau-cœur.....25
- Nitrate de potassium.....10

Code	CTX	CAZ	AMC	ATM	FEP	FOX	Synergie	CS	K	TOB	CIP	IMP	MER	CIM
Dia4A	16	29	S	30	24	30	-	20	12	R	30	-	-	/
Dia4	30	20	30	30	30	R	-	15	25	20	35	23	28	S (20)
Dia6	13	20	18	20	20	29	+	15	13	R	25	-	-	/
Dia9	9	10	15	15	16	21	+	15	6	7	20	-	-	/
Dia11	10	15	15	20	20	28	+	15	13	R	25	-	-	/
Pneumo1	R	R	R	10	17	R	+	15	15	10	R	-	-	/
Pneumo3	R	R	R	10	13	R	+	15	15	10	R	-	-	/
Pneumo3A	10	9	12	15	19	25	+	15	6	7	20	-	-	/
Pneumo6	R	R	8	R	9	R	-	15	13	10	20	R	9	R
Pneumo6C	R	R	8	R	9	R	-	15	15	10	20	R	10	R
Pneumo7A	10	10	12	15	19	25	+	13	7	9	20	-	-	/
pneumo7B	R	R	R	15	30	9	+	20	25	23	30	-	-	/
Pneumo7c	R	R	R	10	14	R	+	15	14	10	20	-	-	/
Pneumo9	R	R	20	R	20	14	+	25	13	15	14	30	25	/
ORL1	13	24	R	25	25	R	-	15	9	20	30	23	23	S(19)
ORL3	10	11	16	17	29	10	+	18	8	10	23	-	-	/
ORL3	17		25	25 R	28	R	-	15	10	20	35	R	11	S(19)
Max1B	R	R	R	8	14	R	+	18	18	10	R	-	-	/
Max2	R	R	R	12	20	R	+	15	13	7	R	-	-	/
Lavabo4	18	29	R	32	30	R	-	20	15	26	S	22	32	S(25)
Or7A	9	R	R	19	30	R	-	15	25	20	33	-	-	/
OR7B	10	7	R	17	25	15	+	15	20	20	35	-	-	/
Or7C	10	R	R	15	R	R	-	14	21	17	30	-	-	/
Or7D	30	27	10	30	30	30	-	13	18	15	S	-	-	/
Or7E	15	R	8	R	20	23	+	14	20	19	25	-	-	/
Code	CTX	CAZ	AMC	ATM	FEP	FOX	Synergie	CS	K	TOB	CIP	IMP	MRP	CIM
Or2A	30	27	S	30	30	25	-	15	20	20	33	20	22	S(20)
Or2B	27	25	S	30	30	26	-	12	18	16	30	13	30	S(20)
Lavabo4	18	29	R	32	30	R	-	20	15	26	S	22	32	S(25)
L3A	14	16	R	20	24	24	+	16	15	7	17	-	-	/
L3B	15	20	R	25	24	29	+	17	15	6	22	-	-	/
Ei4	11	17	S	19	16	27	+	14	11	R	19	-	-	/
Ei6A	16	17	R	24	24	24	+	15	12	6	20	-	-	/
Ei6B	14	17	R	21	26	24	+	15	12	8	19	-	-	/
L2ERTA1	30	25	16	30	30	24	-	15	25	23	32	15	25	S(20)
L2ERTA2	10	29	S	19	17	R	-	14	11	10	25	15	25	S(25)
L2ERTA3	29	23	19	27	25	20	-	17	20	19	8	10	22	S(25)
L2ERTA4	31	25	16	30	30	24	-	15	25	24	32	16	30	S(19)
L2ERTA5	30	25	26	30	30	25	-	15	22	21	34	14	25	S(20)
UA	13	14	12	17	18	19	-	14	17	11	17	-	-	/
UB	15	18	R	18	23	R	-	16	11	10	37	-	-	/
SF	12	18	S	21	23	R	-	16	13	9	21	-	-	/
M1	17	17	10	16	21	10	+	15	14	10	19	-	-	/
M3	15	16	9	21	20	24	+	15	11	14	19	-	-	/
M5A	20	19	S	25	18	23	-	14	19	13	24	-	-	/
M5B	19	17	10	22	23	22	-	16	15	10	19	-	-	/
M5C	22	22	10	27	23	20	-	14	20	16	35	-	-	/
M6	27	25	S	35	30	R	-	14	15	10	19	-	-	/
M6A	11	16	S	19	15	25	+	14	11	R	18	-	-	/
M6B	29	27	S	33	32	R	-	12	18	14	24	-	-	/
M7A	17	19	14	25	27	25	+	17	27	30	30	10	22	S(21)
M7B	30	25	18	33	30	25	-	15	24	23	35	12	25	S(24)
M7C	34	30	S	38	38	32	-	17	22	25	35	15	33	S(21)
M9A	19	18	9	22	29	10	-	14	17	19	27	-	-	/
M9B	19	14	9	25	11	18	-	16	30	23	32	-	-	/
G3A	18	21	R	19	25	R	-	16	30	22	32	-	-	/
G3B	18	16	9	20	22	R	-	11	25	20	26	-	-	/
G4A	14	15	10	18	20	24	+	15	29	23	25	-	-	/
G4C	12	15	14	19	18	23	+	19	26	22	28	-	-	/
G5	27	23	S	30	27	25	+	13	19	15	25	-	-	/

Code	Glucose	Lactose	Gaz	H2S	Citrate	B.nitraté	Eau peptone	uréase	RM	VP	Chromagar	Groupe bacterienne	Espèce
Dia4A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Mauve	KES	<i>K.pneumoniae</i>
Dia6	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	Mauve	KES	<i>K.pneumoniae</i>
Dia9	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Mauve	Enterobacteriaceae	<i>K.pneumoniae</i>
Dia11	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	Mauve	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
Pneumo1	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	Mauve	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
Pneumo3	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	Mauve	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
Pneumo3A	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	Mauve	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
Pneumo7A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
pneumo7B	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
Pneumo7c	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	Bleu	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
ORL3CTX	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	Bleu	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
Max1B	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	Bleu	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
Max2	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
L3A	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
L3B	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
L4inf	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
Ei4	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
Ei6A	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
Ei6B	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	Mauve	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
M1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	Mauve	KES	<i>K.pneumoniae</i>
M3	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	Mauve	Enterobacteriaceae	ENTEROBACTER
M5A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
M5B	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Mauve	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
M5C	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
M6	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
M6A	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
M6B	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
M9A	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	Mauve	ENTEROBACTER	ENTEROBACTER
M9B	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	Mauve	ENTEROBACTER	ENTEROBACTER
G3A	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	Mauve	ENTEROBACTER	ENTEROBACTER
G3B	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
G4A	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
G4C	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
G5	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
UA	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	Mauve	ENTEROBACTER	ENTEROBACTER
UB	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	Bleu	ENTEROBACTER	ENTEROBACTER
SF	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
Or7A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
OR7B	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Mauve	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
Or7C	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
Or7D	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	Mauve	KES	<i>K.OXYTOCA</i>
Or7E	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.OXYTOCA</i>

Code	Glucose	Lactose	Gaz	H2S	Citrate	B.nitraté	Eau peptonε uréase	RM	VP	chromagar	Groupe bacterienne		
Dia4	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	Bleu	KES	CITROBACTER
Pneumo6	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	
Pneumo6C	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Bleu	KES	
Pneumo9	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	Bleu	<i>Enterobacteriaceae</i>	ENTEROBACTER
L2ERTA1	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
L2ERTA3	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
L2ERTA4	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
L2ERTA5	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
M7A	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	Bleu	KES	<i>K.pneumoniae</i>
M7B	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	MAUVE	<i>Enterobacteriaceae</i>	ENTEROBACTER
M7C	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	
Or2A	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Bleu	KES	
Or2B	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	MAUVE	<i>Enterobacteriaceae</i>	ENTEROBACTER
ORL1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	VERT	pseudomonas	
ORL3MER	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	VERT	pseudomonas	
Lavabo4	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	VERT	pseudomonas	
L2ERTA2	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	BLANC	pseudomonas	
L2infmc	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	VERT		



**Résumé :**

**Objectif :** Caractérisation de la multirésistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif isolés des effluents hospitaliers.

**Méthodes :** Un total de 72 prélèvements a été effectué à partir de différents effluents hospitaliers. L'isolement a été fait sur une gélose de Mac Conkey additionnée de méropénème à raison de 0,5 µg/ml pour la sélection des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes et sur gélose Mac Conkey additionnée de 4 µg/ml de céfotaxime pour la sélection des BGN résistants aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération. Les souches isolées ont fait l'objet d'une identification conventionnelle. La caractérisation de la sensibilité *vis-à-vis* des β-lactamines et d'autres familles d'antibiotiques a été réalisée par antibiogramme standard sur gélose MH et les phénotypes de résistance aux β-lactamines ont été étudiés par test de synergie, test CIM et sensibilité à la timocilline.

**Résultat :** 61 souches de bacilles à Gram négatif ont été identifiées dont 42 entérobactéries isolées sur milieu au CTX et 19 BGN (entérobactéries, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*) isolées sur milieu au méropénème. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré que ces souches sont multirésistantes mais restent sensibles à la colistine. Le test de synergie a été positif pour 28 souches indiquant la production probable d'une BLSE par contre deux souches seulement ont été considérées comme productrices d'une carbapénémase.

**Conclusion :** Les résultats rapportés montrent que les effluents hospitaliers sont chargés en BGN multirésistants et présentent de ce fait un danger de santé publique une fois retrouvés dans l'environnement naturel.

**Mots clés :** Effluents hospitaliers, Bacilles à Gram négatif, BLSE, Carbapénémase, Multirésistance

**Abstract:**

**Objective:** Characterization of multidrug resistance in Gram-negative bacilli isolated from hospital effluents .

**Methodology :** A total of 72 samples were taken from different hospital effluents. Isolation was done on Mac Conkey agar supplemented with meropenem at 0.5 µg / ml for selection of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli and Mac Conkey agar supplemented with 4 µg / ml cefotaxime for selection of 3rd generation cephalosporin resistant BGNs. Isolated strains have been conventionally identified. Characterization of susceptibility to β-lactam antibiotics and other families of antibiotics was performed by standard MH agar micrograph and β-lactam resistance phenotypes were studied by synergy test, CIM test. and sensitivity to timocillin.

**Result:** Sixty-one strains of gram-negative bacilli were identified, including 42 enterobacteria isolated on CTX medium and 19 BGNs (enterobacteria, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*) isolated on meropenem medium. The study of antibiotic sensitivity has shown that these strains are multiresistant but remain sensitive to colistin. The synergy test was positive for 28 strains indicating the probable production of an ESBL but only two strains were considered to be producing carbapenemase .

**Conclusion :** The reported results show that hospital effluents are loaded with multidrug-resistant BGN and thus pose a public health hazard once found in the natural environment.

**Keywords:** Hospital effluents, Gram-negative bacilli, ESBL, Carbapenemase, Multiresistance.