

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Microbiologie Médicale Moléculaire



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Criblage de souches de bacilles à Gram négatif
productrices de BLSE et de carbapénèmases
isolées des services de réanimation**

Présenté par :

M^{lle} BADJI Fariza & M^{lle} BEGHIBEGH Manal

Soutenue le 21 Juin 2018

Devant le jury composé de :

Mr AMIR N.	MCA	Président
Mme BELHADI K.	MAA	Encadreur
Mme GHAROUT A.	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

Dédicace

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et déterminer ce mémoire.

** Je dédie ce mémoire...**

A mon très cher père El Bahi

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge d'adulte.

Puisse dieu te garder et te procurer santé et longue vie.

A ma mère Aida

Ma douce et tendre maman. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.

A mes chers frères Mohamed et Noufel

En témoignage de mon profond attachement, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite.

Puisse Dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A ma chère sœur Nada

A notre fraternité qui m'est très chère.

Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

A mes tantes Farida , samira , nora, latifa , ainsi que tous mes oncles Ahmed , Rachid et Adel

Pour votre affection et votre soutien. Que Dieu vous bénisse.

A ma chère binôme Fariza Badji

A mes chères camarade Abir , Amira , Linda, wissem et roukia

Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble.

Vous m'avez offert ce qu'il y a de plus cher : l'amitié.

Je vous souhaite beaucoup de succès, de réussite et de bonheur.

A toute mes amis de Université A.mira et Résidence Pépinière

*Pour le soutien que vous m'avez apporté durant ces cinq années
académiques. Que Dieu vous bénisse.*

❖Ainsi que toute l'équipe du laboratoire.

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin a la réalisation de ce travail.

✦MANAL✦

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Je dédie ce modeste travail à :

Mon très cher père

Aucun mot ne peut être suffisant pour exprimer mon amour que je lui porte et je veux le remercier pour tout ce qu'il a fait pour moi et pour nous .que dieu l'accueille dans son vaste paradis

Ma très chère et douce mère

Je te souhaite une longue vie et que dieu te protège pour nous et te garde ta santé.

Pour mes chers frères et sœurs

je vous souhaite une longue vie pleine de succès, de santé et de joie.

Pour mes chers cousins et toute la famille Badji et la famille moicim,ibbou,

Houacine et iguerchah

Mon amie, binôme, collègue, partenaire dans tout Beghibegh Manal

Je te souhaite tout ce que tu veux avec une vie pleine de joie et de succès.

Mes chers amis de l'université A. Mira et Résidence

Qui me soutenait toujours et était avec moi tout au long de mon voyage dans la résidence.

Sans oublier mes proches amis Hakim et Charaf

A tous mes élèves et mes collègues profs

A tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de ce mémoire

✦FARIZA✦

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu

le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Ensuite, je tiens à remercier

Mme Belhadi K, prof à l'université A-Mira Bejaia, pour ses précieux conseils et qui a toujours été à l'écoute et disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à

*Ms AMIR ...à l'Université de Bejaia qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury.
Mme GHAROUT...L'Université de Bejaia, je le remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Je tiens à remercier Dr Abdellah, Dr Takbou, Dr Boudjit et Dr Filali, Dr Djoudi, Madame RAHMANI et Mme GHAROUT

Et je tiens à remercier Ms Amran Akli, Nana Kamilia, Ms Nour El-dain et Narimane

Vous avez été toujours disponible pour répondre à nos préoccupations. Merci pour votre contribution dans la réalisation de ce travail. Que Dieu vous bénisse.

Mes remerciements s'adressent également:

Aux Directeurs des Hôpitaux et Personnel de direction

Personnels de l'hôpital du Mila et Tizi-Ouzou

Chefs des services de réanimation

Chefs du laboratoire

Un grand merci pour leur accueil, et leur gentillesse, je les remercie profondément

Je tiens également à adresser mes sincères remerciements et mes profondes reconnaissances à nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Je tiens aussi à remercier tout les profs de lycée Illouli et Houari Boumedine.

*Enfin, je tiens à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à
l'exécution de ce modeste travail.*

Sommaire

Abréviations et Acronymes

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction

Matériel et Méthodes

I.	Cadre d'étude	08
II.	Méthode de prélèvement des surfaces	10
III.	Isolement des souches.....	10
IV.	Identification des souches.....	10
V.	Etude de la résistance souches d'entérobactéries aux antibiotiques	12
VI.	Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamases	13
1.	Recherche des β -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	13
1.1.	DD-test (Test de synergie)	13
2.	Recherche de production de carbapénèmases	14
2.1.	Test CIM (Carbapenem Inactivation Method)	14
2.2.	Sensibilité à la témocilline	14

Résultats

I.	Répartition des souches par espèces.....	17
II.	Répartition des souches par sites de prélèvements	17
III.	Sensibilité des souches isolées sur CTX aux ATB	19
III.1.	Sensibilité aux β -lactamines.....	19
III.2.	Sensibilité aux autres familles d'ATB	19
IV.	Sensibilité des souches isolées sur MERO aux ATB.....	20
IV.1.	Sensibilité au β -lactamines	20
IV.2.	Sensibilité aux autres familles d'ATB	21

V. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	21
V.1. Recherche de la production de BLSE par le test de synergie.....	21
V.2. Recherche de la production de carbapénèmases	23
Discussion	26
Conclusion et perspectives	33
Annexes	

A BRÉVIATIONS ET A CRONYMES

ADN	Acide Désoxyribonucléique
AMC	Amoxicilline + acide Clavulanique
Amp C	Céphalosporinases de classe C
ATB	Antibiotiques
ATM	Azteréonam
BGN	Bacilles à Gram Négatif
BMR	Bactérie multirésistante
BLSE	Bêta-lactamase à Spectre Etendu
BN	Bouillon Nutritif
C1G	Céphalosporine de 1 ^{ère} Génération
C2G	Céphalosporine de 2 ^{ème} Génération
C3G	Céphalosporines de 3 ^{ème} Génération
CAZ	Céftazidime
CIP	Ciprofloxacine
CT	Colistine
CTX	Céfotaxime
ERTP	Ertapénème
ERG	<i>Enterococcus</i> Résistant à la Gentamicine
EUCAST	European Comity on Antibiotic Susceptibility Testing
FEP	Céfépime
FOX	Céfoxitine
I	Intermediaire
IMP	Impénème
KES	<i>Klebsiella-Enterobacter-Serratia</i>
GES	Guyana Extended Spectrum
IN	Infection Nosocomiale
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
VIM	Verona Integron-encoded Mettalo-beta-lactamases

MBL	Mettalo- beta-lactamases
MEM	Méropénème
MH	Mueller Hinton
NDM	New Delhi Metallo-beta-lactamases
NR	Nitrate réductase
OXA	Oxacillinase
R	Résistant
RM	Rouge de Méthyle
S	Sensible
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
TEM	Temoneira
TOB	Tobramicyne
TSI	Triple Sugar Iron
VP	Voges Proskauer
VRBL	Violet Rouge Bile Lactose
CTX-M	Céfotaximase Munich
CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CIT	Citrate
MC	Mac Conkey
GLU	Glucose
LAC	Lactose
LPS	Lipopolysaccharide
SHV	Sulphydrihe Variable
MDR	Multi Drug Resistance

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des souches de BGN isolées sur CTX et MER par espèce.....	17
Figure 2 : Taux de résistance de bacilles Gram négatif aux β -lactamines.....	19
Figure 3 : Taux de résistance des souches aux autres familles d'antibiotique.....	20
Figure 4 : Taux de résistance de bacilles Gram négatif aux β -lactamines.....	20
Figure 5: Taux de résistance des souches aux autres classes d'antibiotiques.....	21
Figure 6 : Image de synergie positive chez <i>K. pneumoniae</i>	21

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Répartition des prélèvements de surfaces à l'hôpital de Mila.....	08
Tableau II : Répartition des prélèvements de surfaces à la clinique publique S'Bihi Tassadit de TiziOuzou	09
Tableau III : Liste de Galerie Biochimique.....	11
Tableau IV : Liste des antibiotiques testés.....	13
Tableau V : Répartition des souches par site de prélèvements.....	18
Tableau VI : Répartition des espèces productrices de BLSE	22
Tableau VII : Résultats du test CIM.....	23
Tableau VIII : Sensibilité des BGN à la témocilline et à l'értapénème.....	24
Tableau IX : Phénotype probable des BGN isolées sur Méropénème.....	25

Introduction

La résistance bactérienne aux antibiotiques est une problématique majeure de santé publique, qui fait l'objet d'une prise de conscience accrue depuis plusieurs années. La surveillance de cette résistance confirme l'accroissement et l'émergence de bactéries multirésistantes (BMR) à potentiel épidémique particulièrement dans les services de réanimation en raison de l'utilisation fréquente et parfois inadéquate des antibiotiques à large spectre (Cattoen, 2015).

La réanimation est une discipline médicale qui s'attache à prendre en charge des patients dont le processus vital est menacé par la survenue d'une ou de plusieurs défaillances organiques telles que : la détresse respiratoire, l'insuffisance rénale aiguë, des troubles graves du rythme et des affections neurologiques (Heddadi, 2013) mettant directement en jeu le pronostic vital. Les unités de réanimation assurent 24 heures sur 24, tous les jours de l'année, l'accueil et la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients et leurs transferts dans les unités de soins dès que leur état de santé le permet (Santé Publique France, 2017).

Bien que les unités de réanimation ne comprennent en général qu'une faible proportion de lits hospitaliers (inférieure à 5%) et qu'elles ne représentent que 8 à 15% des admissions à l'hôpital, elles représentent une forte proportion des infections acquises à l'hôpital (Lepelletier et *al.*, 2004). Les pneumopathies sous ventilation mécanique restent la première complication infectieuse en réanimation. La deuxième infection en fréquence est la bactériémie nosocomiale. Elle n'est que le reflet des foyers infectieux primitifs, poumons, urines, site opératoire, cathéter vasculaire, ou de la sévérité de l'état des patients (Lucet et Bouadma, 2015).

Les patients de réanimation, du fait du recours fréquent aux cathéters vasculaires, sondes urinaires ou sondes d'intubation, sont particulièrement exposés aux infections associées aux biofilms (Lebeaux et *al.*, 2016). De même, des portages de longue durée chez les patients hospitalisés et réadmis en réanimation par des BMR ont été rapportés. Ces BMR sont principalement des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE), entérocoques résistants aux glycopeptides, entérobactéries résistantes aux carbapénèmes et *Acinetobacter baumannii* multirésistant (Cattoen, 2015).

En réanimation, les facteurs déterminants impliqués dans la sélection et la diffusion des bactéries multirésistantes (BMR) se trouvent encore majorés en raison des spécificités de cette

discipline : fragilité des patients et gravité des pathologies, densité des soins, divers actes invasifs et consommation élevée d'antibiotiques (Njall et *al.*, 2013 ; Conton, 2015).

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque est accru avec l'évolution des pratiques de soins plus efficaces, mais souvent plus invasives (sondage vésicale, incubation, ventilation artificielle, ...). Ces dernières s'accompagnent d'une possibilité de contamination par des microorganismes d'origine endogène (flore digestive, respiratoire, cutanée) ou exogène par des bactéries provenant d'un autre patient ou de l'environnement (surface, air, eau) (Bertrou et *al.*, 2000 ; Cavallo et *al.*, 2002). L'acquisition d'une BMR peut se faire de deux manières : soit de manière exogène à partir de l'environnement hospitalier du patient ou à partir d'autres patients porteurs dans une unité, soit de manière endogène par sélection au sein de la propre flore du patient d'une souche préexistante multirésistante (Cattoen, 2015).

La flore des patients colonisés et/ou infectés participe fortement à la contamination de leurs environnement immédiat (appareils et objets divers servant à la surveillance et au traitement) en particulier lorsqu'il s'agit d'infections respiratoires ou de diarrhées (Dancer, 2014 ; Kramer et Assadian, 2014 ; Blanc et *al.*, 1998). Ces microorganismes peuvent être détectés également dans l'environnement éloigné qui comporte l'air, l'eau et les surfaces qui entoure le patient (laiterie, poignée, lavabo, robinet, surfaces humide, ...) (Blanc et *al.*, 1998). C'est dans les unités de réanimation que l'identification des patients porteurs de BMR est la plus exhaustive. En effet, la plupart de ces unités mettent en œuvre un dépistage quasi systématique des patients, le plus souvent dès l'entrée, en cours d'hospitalisation et en sortie avant transfert (Cattoen, 2015).

La survie et éventuellement la multiplication des bactéries conditionnent l'importance de la colonisation environnementale (Talon, 1999). Cette survie dépend de différents facteurs comme la nature du germe, la température, le taux d'humidité, la capacité à former des biofilms, le type de surface et leur degré de salissure, en particulier leur teneur en matières organiques (Talon, 1999 ; Bertrou et *al.*, 2000). Les surfaces inertes les plus contaminées ("*high-touch surfaces*") sont celles qui sont le plus souvent à proximité des patients (les zones adjacentes) et celles fréquemment touchées par le personnels de santé (contact avec les mains) (Oliveira et Damasceno, 2010 ; Gebel et *al.*, 2013 ; Otter et *al.*, 2014).

Les pathogènes qui causent des infections nosocomiales doivent avoir deux propriétés spécifiques. Ils doivent tout d'abord être reconnus comme des pathogènes hospitaliers et ils

doivent avoir l'habilité de survivre sur les surfaces présentes dans l'environnement hospitalier pour de longues périodes de temps (Dancer, 2009). Les bactéries à Gram négatif sont de plus en plus incriminées dans les infections nosocomiales, notamment l'espèce *A. baumannii*. En effet, les souches d'*A. baumannii* se sont inscrites ces dernières années parmi les bactéries les plus redoutées dans les services de réanimation. Elles sont considérées comme des agents d'infections nosocomiales sévères sporadiques ou épidémiques notamment chez les patients affaiblis (Saïdani et al., 2006 ; O'Shea, 2012).

La problématique liée aux bactéries multirésistantes (BMR) est encore plus aiguë dans les unités de réanimation et la lutte contre les infections nosocomiales et en particulier celles liées aux germes de l'environnement hospitalier, fait partie des priorités des établissements de santé (Saouide el ayne et al., 2014). La proportion de BMR est le reflet de la qualité de soins dans une structure hospitalière donnée. Cette proportion varie selon les hôpitaux et surtout selon le type d'activité des services hospitaliers (Saïdani et al., 2006). La surveillance en réanimation, comme dans les autres types de services de soins, cible les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR), qui ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques du fait de l'accumulation des résistances (Cattoir et Leclercq, 2013).

L'émergence de nouveaux mécanismes de résistances aux antibiotiques et de BMR ne cesse de croître. En parallèle, très peu de nouvelles molécules voient le jour ce qui fait courir un risque d'impasse thérapeutique de plus en plus fréquent (Bedos et al., 2014). En raison de cette fréquence élevée, de la gravité des infections à BMR et de leur capacité à diffuser en réanimation, les bactéries multi-résistantes (BMR) font l'objet d'un programme de surveillance et de prévention de par le monde. Certaines BMR sont la cible du programme national de surveillance de la résistance aux antibiotiques redéfini régulièrement (AARN, 2016; AARN, 2017 ; AARN, 2018). Actuellement, les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), entérobactéries productrices de BLSE et/ou résistants à l'imipénème, *Acinetobacterbaumannii* résistants à l'imipénème, *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème, à la céftazidime et/ou à la ciprofloxacine, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcusfaecium* résistants ou intermédiaires aux glycopeptides et cela dans 5 secteurs de soins dont la réanimation (AARN, 2018).

L'Organisation Mondiale de la Santé, met plus particulièrement en avant la menace des bactéries à Gram négatif devenues résistants à un grand nombre d'antibiotiques, y compris les céphalosporines de troisième génération et les carbapénèmes (OMS, 2017). Ces bactéries peuvent être retrouvées dans l'environnement hospitalier, au niveau des individus

(patients, personnel soignant) ou de l'environnement inanimé (surfaces, instruments, solutés) (Liassine, 2000). L'environnement joue un rôle majeur dans la transmission croisée des micro-organismes. Le bionettoyage standard est microbiologiquement insuffisant. Son amélioration est primordiale pour le contrôle des endémies et des épidémies bactériennes (Blazejewski et al., 2014).

Les β -lactamines à large spectre d'action sont spécifiquement utilisées dans le traitement des infections résistantes potentiellement mortelles causées par des bactéries multi-résistantes. Le principal mécanisme de résistance aux C3G et aux carbapénèmes est l'acquisition de gènes encodant respectivement des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénémases. Plusieurs études ont répertorié les principales β -lactamases responsables des épidémies dans de nombreux pays à savoir les types TEM, SHV et CTXM pour les bactéries productrices de BLSE, et plus récemment les types IMP, KPC, NDM, OXA-48 et VIM pour les bactéries productrices de carbapénémases (Vallée, 2015).

Les BLSE font partie du groupe 2be, c'est-à-dire qu'elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème} génération et les monobactames (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 soient 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).

Les bactéries productrices de BLSE ont causé de nombreuses épidémies ayant fréquemment comme foyer d'origine les services de réanimation. Les infections causées par ces souches présentent un risque accru d'échec thérapeutique et sont associées à des hospitalisations prolongées et des surcoûts liés aux soins. Les carbapénèmes constituent le traitement de choix des infections invasives causées par ces souches sur la base des données cliniques disponibles (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

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 oxacillinases, soient 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 carbapénèmases plasmidiques de classe A, les plus fréquentes et les plus menaçantes, du fait de leur pouvoir de dissémination important au sein de nombreuses espèces comme *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter spp.* et même *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Bratu *et al.*, 2005 ; Villegas *et al.*, 2007 ; Robledo *et al.*, 2010). Les enzymes de type NDM-1 ont été décrites pour la première fois chez les souches de *K. pneumoniae* et de *E. coli* en Inde 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 différents agents antimicrobiens développés avec le temps représentent des outils thérapeutiques de choix pour le contrôle des infections causées par ces microorganismes. Malheureusement, l'incidence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif a augmenté à un rythme alarmant au niveau mondial au cours des 20 dernières années (Cantòn *et al.*, 2012 ; Woodford *et al.*, 2011 ; Vallée, 2015). La maîtrise de la dissémination de ces souches est réalisable même en situation endémique par la mise en œuvre de stratégies combinant l'usage raisonné des antibiotiques, la promotion de l'hygiène des mains, le dépistage des patients porteurs et l'utilisation de précautions d'isolement de contact lors des soins (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

En Algérie la résistance aux antibiotiques est devenu un problème majeur de santé publique et indique une situation inquiétante, notamment dans le nord du pays (Baba Ahmed-Kazi Tani *et al.*, 2014). En effet, ces dix dernières années, une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particuliers chez les bacilles à Gram négatif est constatée. La résistances aux β -lactamines chez les entérobactéries est dominée par la production de BLSE de type CTX-M-3 et CTX-M-15 aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (Touati *et al.*, 2006 ; Baba Ahmed Kazi Tani et Arlet, 2014 ; Gharout-Sait *et al.*, 2012). L'isolement de souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases de type OXA-48 a été rapporté en milieu clinique (Agabou *et al.*, 2014) et dans l'environnement hospitalier (Bouguenoun *et al.*, 2016). De même, des souches d'*A. baumannii* productrices d'OXA-23 et NDM-1 d'origine clinique et environnementale (Bakour *et al.*, 2012 ; Mesli *et al.*, 2013 ; Zenati *et al.*, 2016).

La réanimation constitue l'épicentre de la résistance bactérienne aux antibiotiques et restera la discipline médicale où les infections nosocomiales à BMR sont les plus fréquentes. De ce fait, les objectifs de cette étude étaient de déterminer la fréquence de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération et aux carbapénèmes des souches de bacilles à Gram

négatif isolées de différentes surfaces à proximités des patients et du personnel hospitalier en réanimation.

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

- ✓ Prélèvements de différentes surfaces dans deux structures hospitalière : clinique étatique d'accouchement S'BihiTassadit de Tizi Ouzou et hôpital de Mila,
- ✓ Isolement et identification des bacilles à Gram négatif sur milieu sélectif additionné de céfotaxime et de méropénème,
- ✓ Etude de la sensibilité des souches aux β -lactamines, quinolones, aminosides et colistine,
- ✓ Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines

MATERIEL ET METHODES

I. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de Microbiologie à l'Université A/MIRA de Bejaia durant la période allant du mois de février au mois de juin 2018.

Durant ce travail deux campagnes de prélèvements ont été effectuées ; la première au cours du mois de février où 54 prélèvements de surfaces ont été effectués au niveau du service de réanimation de la clinique étatique d'accouchement « S'Bihi Tassadit de Tizi-Ouzou ». La deuxième campagne a été effectuée au cours du mois de mars où 50 prélèvements de surfaces ont été réalisés au niveau du service de réanimation de l'EPH de Mila.

Les prélèvements ont ciblé des surfaces inertes, les plus susceptibles de rentrer en contact avec les patients, le personnel dans les services de réanimation (points critiques). La répartition des prélèvements par structures de soins, par date et par site de prélèvement est représentée dans le tableau I et II.

Tableau I : Répartition des prélèvements de surfaces à l'EPH de Mila

Date	Lieu ou pavillon	Sites de prélèvement	Nombre de prélèvements
28.03.2018 10h00	Salle 01	Poignée de porte, Scope, Potence, Pochette des urines, Interrupteur, Table de chevet, Lit de patient	10
	Salle 02	Radiateur, Lit vide, Table de dossiers, Poubelle	08
	Salle 03	Poignée de porte, Lavabo, Porte savon, Robinet, Sol, Toilette, Chasse d'eau	10
	Salle 04	Cardiogramme, Aspirateur, Chariot de soins, Seringue électrique, télé de Radiologie	09
	Salle 05	Poignée porte chambre de garde, Interrupteur Chambre de Garde, Table Chambre de Garde, Ordinateur, Téléphone, Poignée d'armoire	13

Tableau II : Répartition des prélèvements de surfaces à la clinique publique S’BihiTassadit de Tizi-Ouzou

Date	Lieu ou pavillon	Sites de prélèvement	Nombre prélèvements
21/03/2018 21 :00h	Salle 01	Poignée de porte, Potence, Lit, Interrupteur, Rideau, Seringue électrique, Table de chevet, Radiateur, Barboteur d’O2, Poignée de l’armoire, Champ propre, Casier d’infirmiers, Téléphone, Chariot de soins, Bureau des infirmiers, Chaise, Lavabo, Bain marie, Distributeur de savon, Poignet fenêtre, Poils de chat, Distributeur de désinfectant, Climatiseur, Paillasse de soins, Blouse du personnel, Main du personnel, Couette (linge de malade)	27
	Salle 02	Poignée de porte, Chariot de soins, Scope, Paravent, Couette, Rideau, Potence, Chaise, Poignée de fenêtre, Table de chevet, Lit de malade	11
	Salle 03	Poignée de porte, Barboteur d’O2, Poignée de l’armoire à pharmacie, Tableau d’affichage, Lit, Couette, Potence, Poigné de fenêtre, Porte manteau, Main du personnel, Blouse du personnel, Mouche, Abord de malade, Escabot, chaussure du personnel (sabot)	16

II. Méthode de prélèvement des surfaces

Un écouvillon stérile est préalablement humidifié dans un bouillon nutritif puis passé sur une zone définie (25 cm²) en stries parallèles rapprochées en le faisant tourner légèrement, et toujours sur la même zone en stries perpendiculaires aux premières. Autre écouvillon stérile est préalablement humidifié dans un bouillon nutritif puis passé sur une surface vivante (mains des personnels). L'écouvillon est introduit dans le bouillon nutritif, transporté au laboratoire de Microbiologie dans une glacière et incubé à 37°C pendant 24h (French et *al.*, 2004).

III. Isolement des souches

A partir des bouillons d'enrichissement positif, on ensemence 1ml de la culture bactérienne, une gélose sélective de Mac Conkey supplémentée de 4µg/ml de céfotaxime pour la sélection des bacilles à Gram négatif (BGN) résistant au C3G et une autre gélose de Mac Conkey supplémentée de 0,5µg/ml de méropénème pour la sélection des BGN résistant aux carbapénèmes. La vancomycine est également additionnée à raison de 32µg/ml aux deux géloses à fin d'éliminer les bactéries à Gram positif. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, les colonies ont fait l'objet d'une purification par repiquage successifs sur le VRBL (Violet Rouge Bile Lactose) jusqu'à obtention d'une culture pure.

IV. Identification des souches

L'identification des souches est basée sur les caractères cultureux (taille, couleur, aspect, contour des colonies), la coloration de Gram et une identification préliminaire est réalisée par repiquage sur milieu chromogène (annexe II).

Les tests biochimiques clés réalisés pour l'identification des entérobactéries sont (Le Minor et Richard, 1993) :

Tableau III : Galerie Biochimique

Tests	Technique	Lecture
<p>Milieu Triple Sugar Iron (TSI) : Fermentation des sucres</p>	<p>L'ensemencement est réalisé à partir d'une suspension bactérienne par piqure centrale, et la surface inclinée par des stries serrées. Puis Incubation à 37°C pendant 24h.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Virage au jaune du culot : fermentation de glucose (+) ➤ Virage au jaune de la pente : fermentation de lactose (+) ➤ Apparition de bulle d'air : production de gaz ➤ Noircissement du milieu : production d'H₂S
<p>Le milieu citrate de Simmons : seule source de carbone et d'énergie</p>	<p>Ensemencement est réalisé par stries serrées à la surface du milieu. Incubation à 37°C de 24h à 7 jours.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Un virage au bleu indique un test positif
<p>Le milieu bouillon nitraté : Recherche du nitrate Réductase</p>	<p>Ensemencement du bouillon à partir de la suspension bactérienne Incubation à 37°C/24h.</p>	<p>Après l'ajout de NRI et NRII :</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ coloration rouge : nitrate réductase (+) ➤ Absence de coloration : Nitrate réductase (-)
<p>Le milieu Eau Péptonée : Exemple d'indole</p>	<p>L'ensemencement avec une suspension bactérienne provenant d'une culture pure de 18 à 24 heures. Incubation des tubes à 35-37 °C pendant 24-48 heures.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Addition du réactif de Kovacs : l'apparition d'un anneau rouge : indole (+).
<p>Le milieu Urée-Indole : Recherche d'une Uréase</p>	<p>Dans un tube stérile contenant une suspension bactérienne, quelques gouttes du milieu urée-indole sont rajoutées, puis incubé 24 heures à 37°C.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Virage du milieu au rouge/rose : uréase (+).

Le milieu de Clarck et lubs : Etude des types fermentaires	Ensemencement du milieu par la suspension bactérienne Incubation à 37°C/24h.	On divise le contenu de tube en deux : <ul style="list-style-type: none">➤ Ajout de réactifs VPI puis VPII dans le premier tube, virage au rouge : VP(+).➤ Ajout de rouge de méthyle (RM), coloration rouge : RM (+).
---	---	--

V. Etude de la sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été évaluée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l'European Comitee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2018) et (CA-SFM ,2013).

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) et (CA-SFM ,2013)

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

Tableau IV : Antibiotiques testés

Famille	Antibiotique	Symbole	Charge (µg)	Marque
Pénicillines	Amoxicilline+ acide clavulanique	AMC	30	Bioanalyse®
	Témocilline	TEM	30	Bio-red
Céphalosporines	Céftazidime (C3G)	CAZ	30	HIMEDIA®
	Céfotaxime (C3G)	CTX	30	Cypress Diagnostic®
	Céfoxitine (C2G)	FOX	30	Liofilchem
	Céfipime	FEP	30	Liofilchem
Carbapénèmes	Imipénème	IMP	10	Cypress Diagnostic®
	Méropénème	MEM	10	Liofilchem
	Ertapénème	ERTP	10	OXOID®
Monobactames	Aztréonam	ATM	30	Cypress Diagnostic®
Aminosides	Tobramycine	TOB	10	Cypress Diagnostic®
	Kanamycine	K	30	Liofilchem
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	HIMEDIA®
Polymixines	Colistine	CT	25	HIMEDIA®

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 (EUCAST, 2018) et (CA-SFM, 2013).

VI. Etude de la sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

1. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

1.1. 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 (bouchon de champagne) entre les disques de Céphalosporine de 3^{ème} et le disque d'augmentin® (Jarlier, 1988).

2. Recherche de la production de Carbapénèmases

2.1. Test CIM modifié (Carbapénème Inactivation Méthode)

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

Le principe de la technique est résumé comme suit :

- ▶ Préparer 03 Eppendorfs contenant 500µl d'eau physiologique stérile.
- ▶ Faire suspendre dans le premier Eppendorf une souche 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.
- ▶ Introduire dans chaque Eppendorf, un disque de Méropénème (MEM) de 10µg (Cypress Diagnostic) puis incubé au minimum 2 heures.
- ▶ Après incubation, déposer les disques de MEM correspondant au témoin (+), témoin (-) et aux souches à tester sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton préalablementensemencées 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, 2018/2017) (Vander Zwaluw et al., 2015).

2.2. Sensibilité à la témocilline

La témocilline est identifiée comme un marqueur suggestif permettant de détecter les carbapénèmases de type OXA-48 qui confèrent une résistance de haut niveau. La résistance élevée à la témocilline n'est pas limitée 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 aux carbapénèmes sont exclus (Bakthavatchalam et al., 2016 ; Dandachi et al., 2016).

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

RESULTATS

Au cours de notre étude, un total de 104 prélèvements a été effectué sur différentes surfaces au niveau de deux services de réanimations «EPH Mila et Clinique étatique d'accouchement S'BihiTassadit de Tizi-Ouzou».

I. Répartition des souches par espèces

Un total de 52 (50%) souches de bacilles à Gram négatif (BGN) ont été isolées sur Mac Conkey additionné de CTX et MERO. Ces souches appartiennent à 3 familles bactériennes à savoir : les *Enterobacteriaceae* (80,76% : 42/52), *Pseudomonadaceae* (1,92% : 1/52) et *Moraxellaceae* (15,38% : 8/52) (**Figure 01**).

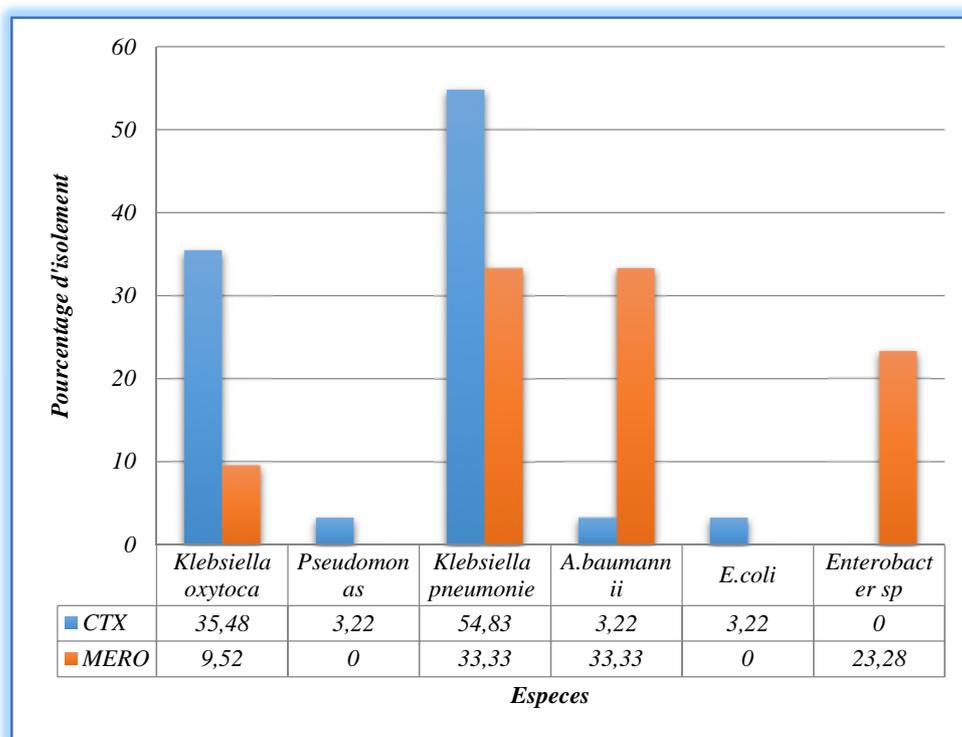


Figure 01 : Répartition des souches de BGN isolées sur CTX et MERO par espèce

II. Répartition des souches par sites de prélèvement

Le tableau ci-dessous montre la présence de 3 groupes bactériens sur des surfaces à proximité des patients. La contamination des mains et blouses du personnel soignant ainsi que les agents d'entretien par des souches de *K. pneumoniae* est également remarqué. Des souches d'*A. baumannii* et de *K. oxytoca* ont été isolées des sanitaires. D'autres souches ont été

également isolées à partir du linge présent dans la chambre de malade, ainsi que du matériel médical.

Tableau V : Répartition des souches par sites de prélèvement

Clinique d'accouchement S'Bihi Tassadit Tizi-Ouzou			EPH Mila			
Site de Prélèvement		Espèces	Site de prélèvement		Espèces	
Salle 01	Poignée de porte	<i>K.oxytoca</i> <i>K. pneumoniae</i>	Salle 01	Seringue électrique	<i>K.oxycota</i>	
	Potence	<i>K. pneumoniae</i>		Salle 02	Lavabo	<i>K.oxycota</i>
	Rideau	<i>K. pneumoniae</i>			Salle 03	Chariot de soins
	Seringue électrique	<i>K. pneumoniae</i>	Salle 04	Lit		<i>Enterobacter sp.</i>
	Table	<i>K. pneumoniae</i>		Couette	<i>K. pneumoniae</i> <i>Enterobacter sp.</i>	
	Radiateur	<i>K. oxytoca</i>		Table	<i>A. baumannii</i>	
	Poignée de l'armoire	<i>Enterobacter sp.</i>		Potence	<i>A. baumannii</i>	
	Champ propre	<i>Enterobacter sp.</i> <i>K.pneumoniae</i>		Salle 05	Chasse d'eau	<i>A. baumannii</i>
	Téléphone	<i>K.oxytoca</i> <i>K.pneumoniae</i>	Sol		<i>A. baumannii</i>	
	Chariot de soins	<i>A. baumannii</i>				
	Bureau des Infirmiers	<i>K. pneumoniae</i>				
	Distributeur de savon	<i>K. pneumoniae</i>				
	Distributeur de savon désinfectant	<i>E. coli</i>				
	Climatiseur	<i>A. baumannii</i>				
	Paillasse de soins	<i>A. baumannii</i>				
	Main de personnels	<i>K. pneumoniae</i>				
	Couette	<i>K. pneumoniae</i>				
Salle 02	Couette	<i>K. pneumoniae</i>				
	Poignée de fenêtre	<i>K.oxytoca</i>				
	Table	<i>K. oxytoca</i>				
Salle 03	Lit	<i>K. oxytoca</i>				
	Couette	<i>K. oxytoca</i>				
	Escabot	<i>Enterobacter sp.</i>				

III. Sensibilité des souches isolées sur céfotaxime (CTX) aux antibiotiques

III.1. Sensibilité des souches aux β -lactamines

La plupart des souches d'entérobactéries étudiées montrent une résistance élevée *vis-à-vis* de l'amoxicilline-acide clavulanique, céfotaxime et céftazédime avec des taux de 98%, 90.32% et 77,41% respectivement. Par contre, les souches non fermentaires représentées principalement par *A. baumannii* sont faiblement résistantes aux C3G (CTX : 93,33%, CAZ : 80%) (Figure 2).

La résistance à la FOX est dû à la présence d'une céphalosporinase naturelle chez *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *Enterobacter* sp. et ou d'une céphalosporinase plasmidique chez *Klebsiella* sp. (Annexe IV).

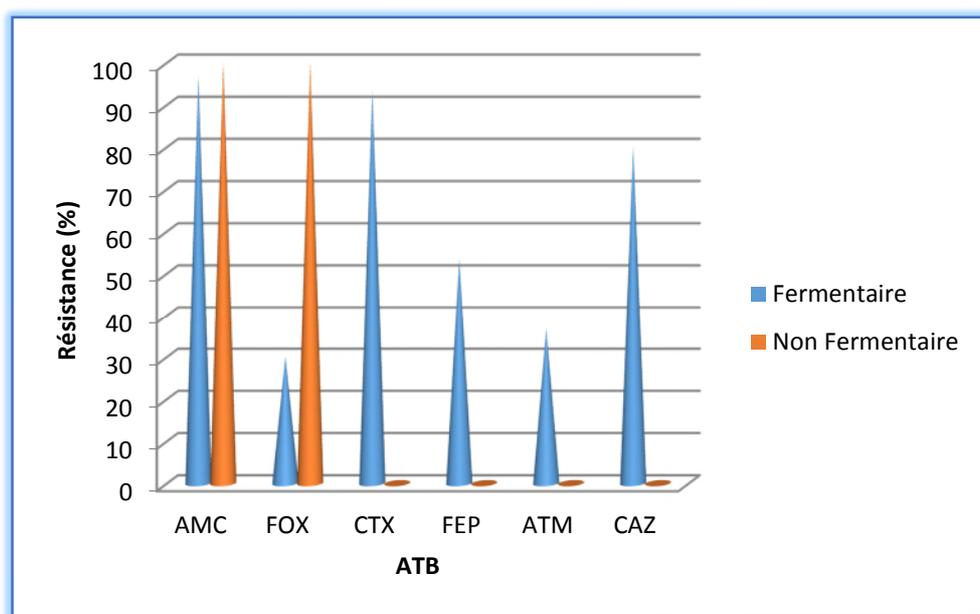


Figure 2 : Taux de résistance de bacilles à Gram négatif aux β -lactamines

III.2. Sensibilité des souches aux autres familles d'antibiotiques

La figure 03 montre que la totalité des souches d'entérobactéries sont résistantes à la tobramycine (86.09%) ainsi qu'à la ciprofloxacine (77.41%) comparées aux souches non fermentaires. Toutefois, la Kanamycine et la colistine reste les plus actives sur ces BGNs.

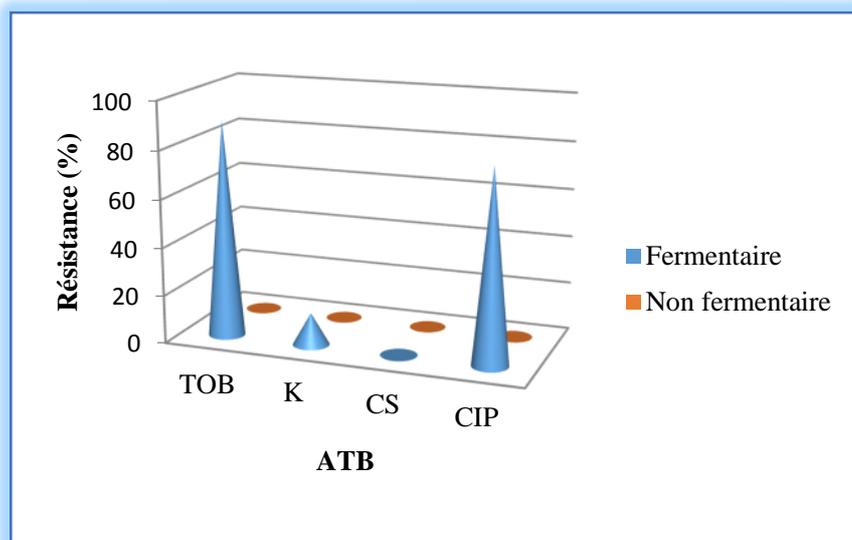


Figure 03 : Taux de résistance des souches,aux autres familles d'antibiotique

IV. Sensibilité des souches isolées sur méropénème (MER) aux ATB

IV.1. Sensibilité aux β -lactamines

Les souches d'entérobactéries présentent une résistance plus marquée *vis-à-vis* des C3G, C4G et imipénème. Les souches non fermentaires montrent également une résistance modérée aux C3G et aux carbapénèmes (IMI, MER). On remarque une résistance élevée des non fermentaires à la FOX dû à la présence de la céphalosporinase naturelle hyperproduite et qui ne touche pas les C4G (Céfipime) (figure 4).

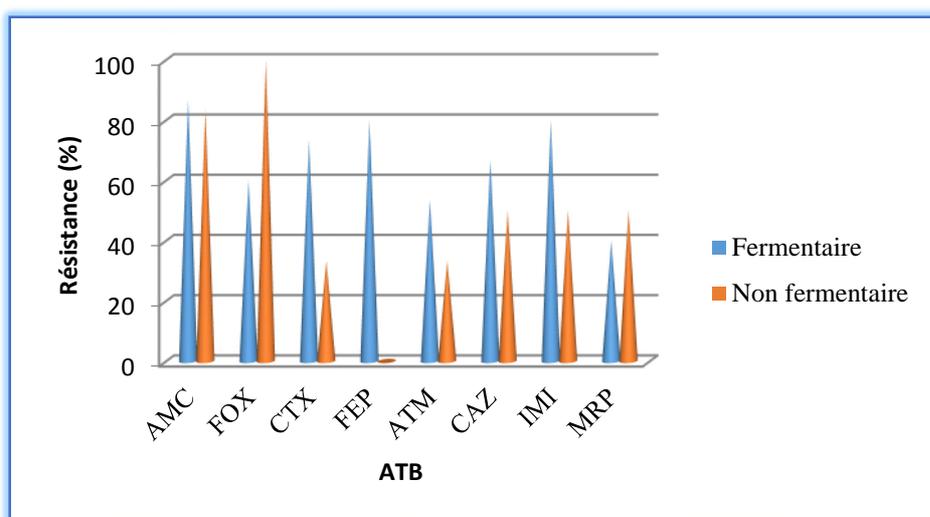


Figure 4: Taux de résistance des bacilles Gram négatif aux β -lactamines

IV.2. Sensibilité aux autres familles ATB

La figure ci-dessous montre que la plupart des souches d'entérobactéries sont plus résistantes à la ciprofloxacine (66,66%), à la tobramycine (73,33%) et à la kanamycine (60%) comparées aux souches non fermentaires. Tandis qu'aucune souche n'est résistante à la colistine (**Annexe IV**)

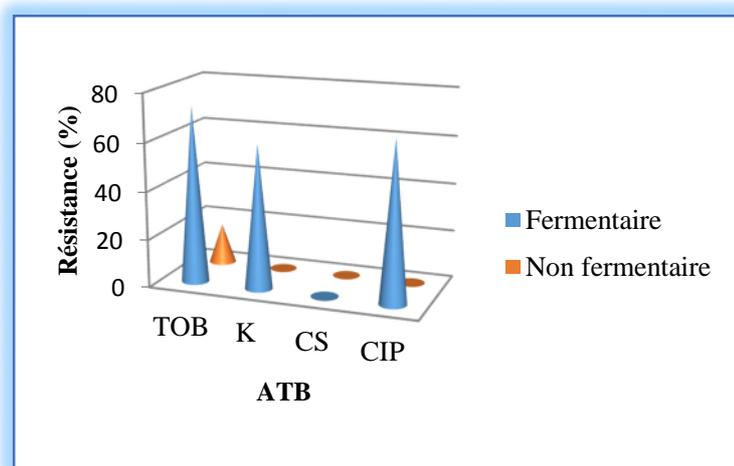


Figure 5 : Taux de résistance des souches aux autres classes d'antibiotiques

V. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines

V.1. Recherche de la production de BLSE par le test de synergie

Le test de synergie réalisé sur 52 souches de BGN a révélé 25 (48.07%) images de synergie positives sous forme de bouchon de champagne (BLSE positif) (figure 6). Ces souches sont réparties comme suit : *K. pneumoniae* 14/25 (56%) souches, *K. oxytoca* 10/25(40%) souches, *A.baumannii*1/25 (4%) souche (tableau VI).

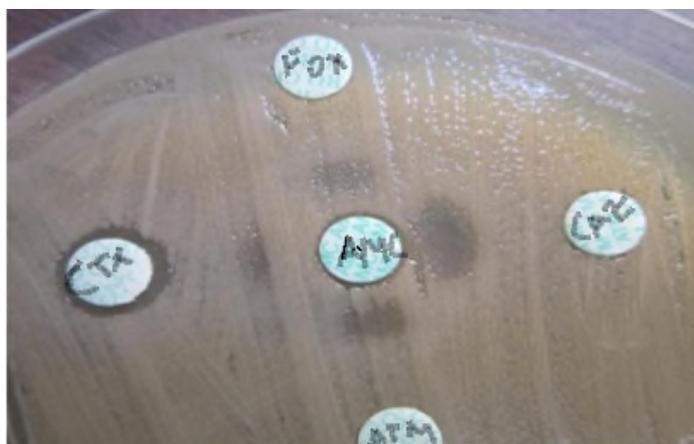


Figure 6 : Image de synergie positive chez *K.pneumoniae*

Tableau VI : Répartition des espèces productrices des BLSEs sur CTX et MERO

Code des souches	Espèces	Image de synergie
M-Réa 01 (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
B (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
A (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
01 A (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
01 B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
08 A (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
08 B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
10B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
11 B (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
13 A (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
13 B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
15 A (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
26 A (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
26 B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
27 (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
32 A (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
32 B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
36 (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
37 (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
44 (CTX)	<i>K. oxytoca</i>	+
52B (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
52A (CTX)	<i>K. pneumoniae</i>	+
S-Réa03(MERO)	<i>A. baumannii</i>	+
05A (MERO)	<i>K. pneumoniae</i>	+
07 (MERO)	<i>K. pneumoniae</i>	+

Le reste des souches isolées sur MERO et CTX n'ont pas montrées d'image de synergie et sont FOX résistantes, ce qui indique probablement la présence d'une céphalosporinase seule ou en association avec une BLSE (Annexe IV).

V.2. Recherche de la production de carbapénèmases

La recherche de carbapénèmases a été réalisée pour les souches résistantes et/ou de sensibilité réduite à l'imipénème, méropénème par le test CIM. Ce test a été réalisé sur un total de 15 bacilles à Gram négatif (Tableau VII) dont uniquement 2 souches de *K. pneumoniae* et une souche d'*A. baumannii* ont montrées une production probable de carbapénèmases.

Tableau VII : Résultats du test CIM

Souches testées	Diamètre	Espèces	Interprétation
Témoin (-)	24 mm (S)	<i>E. coli</i>	Négatif
Témoin (+)	09mm (R)	<i>KPC</i>	Positif
A-Réa 04 B (MERO)	24mm (S)	<i>Enterobacter sp.</i>	Négatif
A-Réa 04 A (MERO)	21 mm (I)	<i>K. pneumoniae</i>	Négatif
S-Réa 03 (MERO)	06mm (R)	<i>A. baumannii</i>	Positif
A-Réa 10 (MERO)	21mm (S)	<i>A. baumannii</i>	Négatif
02 (MERO)	23mm (S)	<i>K. pneumoniae</i>	Négatif
05 A (MERO)	20 mm (I)	<i>K. pneumoniae</i>	Négatif
06 (MERO)	21 mm (I)	<i>K. pneumoniae</i>	Négatif
07 (MERO)	23 mm (S)	<i>K. pneumoniae</i>	Négatif
10 (MERO)	21 mm (I)	<i>Enterobacter sp.</i>	Négatif
11 (MERO)	20 mm (I)	<i>Enterobacter sp.</i>	Négatif
11 B (MERO)	23 mm (S)	<i>K. pneumoniae</i>	Négatif
19 (MERO)	06mm (R)	<i>K. pneumoniae</i>	Positif
43 (MERO)	27 mm (S)	<i>K. oxytoca</i>	Négatif

Le test de sensibilité à la témocilline en association avec la résistance à l'ertapénème a été réalisé sur un total de 13 BGN (tableau VIII). La résistance à la témocilline et à l'ertapénème indique la production probable de carbapénèmases de type OXA-48.

Tableau VIII : Sensibilité des BGN à la témocilline et à l'értapénème

Souches	ERTA	Témocilline	Espèce
S-Réa 03 (MERO)	6 mm (R)	6 mm (R)	<i>Enterobactersp.</i>
A -Réa 04 A (MERO)	6 mm (R)	6 mm (R)	<i>K. Pneumoniae</i>
A -Réa 04 B (MERO)	6 mm (R)	14 mm(R)	<i>Enterobactersp.</i>
A -Réa 10 (MERO)	28 mm(S)	28 mm(S)	<i>A.baumannii</i>
02 (MERO)	7 mm(R)	22 mm(S)	<i>K.pneumoniae</i>
05 A (MERO)	6 mm (R)	21mm(S)	<i>K.pneumoniae</i>
06 (MERO)	6 mm (R)	23mm(S)	<i>K.pneumoniae</i>
07 (MERO)	6 mm (R)	20mm(S)	<i>K.pneumoniae</i>
10 (MERO)	23 mm (I)	27 mm(S)	<i>Enterobactersp.</i>
11 (MERO)	7 mm(R)	22mm (S)	<i>Enterobactersp.</i>
11 B (MERO)	6 mm (R)	21mm (S)	<i>Enterobactersp.</i>
19 (MERO)	6 mm (R)	24mm(S)	<i>K.pneumoniae</i>
43 (MERO)	24 mm(I)	33 mm(S)	<i>K.oxytoca</i>

VI. Phénotype probable des BGN isolées sur Méropénème

Tableau IX : Phénotype probable des BGN isolées sur Méropénème

Code de la souche	Espèce	Profil de la résistance	Syne rgie	Resistance à la témociline	CMI	Phénotype probable
A-Rea 04 A	<i>K. pneumoniae</i>	FOX, CAZ, IMI.	-	R	I (21)	Céphalosporinase+ Imperméabilité
A-Rea 04 B	<i>Enterobacter sp.</i>	FOX	-	R(14)	S (24)	Céphalosporinase hyperproduite
A-Rea 10	<i>A. baumannii</i>	FOX, IMI	-	S (28)	S(21)	Céphalosporinase+ Imperméabilité
S-Rea 03	<i>A. baumannii</i>	AMC, FOX, CAZ, MRP, IMI.	+	R	R	BLSE + Carbapénémase
02	<i>K. pneumoniae</i>	AMC, CTX, FEP, ATM, CAZ.	-	S(22)	S(23)	Céphalosporinase hyperproduite
05A	<i>K. pneumoniae</i>	AMC, FOX, CTX, FEP, CAZ, IMI.	+	S(21)	S (20)	BLSE + imperméabilité
06	<i>K. pneumoniae</i>	AMC, FOX, CTX, FEP, MRP, IMI.	-	S(23)	I (21)	Céphalosporinase+ Imperméabilité
07	<i>K. pneumoniae</i>	AMC, CTX, FEP, ATM, CAZ, IMI.	+	S(20)	S (23)	BLSE + imperméabilité
10	<i>Enterobacter sp.</i>	AMC, FOX, CTX, FEP, ATM, CAZ, MRP, IMI.	-	S(27)	I (21)	Céphalosporinase+ Imperméabilité
11	<i>Enterobacter sp.</i>	AMC, CTX, FEP, ATM, CAZ, IMI	-	S(22)	I (20)	Céphalosporinase hyperproduite
11B	<i>K. pneumoniae</i>	AMC, FOX, CTX , FEP, ATM, CAZ MERO,IMI	-	S(21)	S (23)	Céphalosporinase hyperproduite
19	<i>K. pneumoniae</i>	AMC, FOX, CTX, FEP,ATM, CAZ, IMI, MERO	-	S(24)	R	Carbapénémase
43	<i>K. oxytoca</i>	AMC, CTX, FEP, CAZ, IMI.	-	S (33)	S (27)	Céphalosporinase+ Imperméabilité

DISCUSSION

L'environnement hospitalier constitue une niche écologique importante de microorganismes multirésistants pouvant être un réservoir à partir duquel différentes infections peuvent se développer (**Zenati et al.**, 2016). Les infections nosocomiales (IN) représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, étant responsables d'une lourde morbidité mais également d'une létalité non négligeable, notamment dans les services de soins intensifs (**Hamza**, 2010).

En réanimation, la surveillance des IN est prioritaire car les patients ont un risque infectieux plus élevé du fait de leur état critique et des dispositifs invasifs auxquels ils sont exposés. De plus, les patients hospitalisés, en particulier dans le service de réanimation, sont les victimes de bactéries multirésistantes à quasiment tous les antibiotiques (Réseau REA-RAISIN, 2013). La pression de sélection par les antibiotiques est un déterminant important de l'émergence et de la diffusion de la résistance aux antibiotiques. De plus, elle est parmi les rares facteurs (avec l'hygiène des mains) influençable ou modifiable par les pratiques (**Bedos**, 2014).

Dans la présente étude, nous avons constaté que le service de réanimation a une fréquence élevée de contamination par les souches de BGN (31 BGN isolées sur CTX et 21 BGN isolées sur MERO) dont les souches appartiennent à 02 groupes bactériens (Enterobacteriaceae, Moraxellaceae). La présence de bacilles à Gram négatif sur des surfaces qui entrent en contact fréquemment avec les patients (lits, tables de chevet, draps, poignée de porte, potence, rideau, poigné de l'armoire, distributeur de savon, couette) suggère une forte probabilité de contamination de ces dernières par leur flore endogène. Le tube digestif constitue un important réservoir de bacilles à Gram négatifs (Entérobactéries, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*) (**Donskey**, 2006). La substitution d'une souche originale par une souche multi-résistante se produit généralement pendant l'hospitalisation et après une antibiothérapie à large spectre en particulier dans les services de soins intensif tel que la réanimation (**Biendo et al.**, 2008).

La flore retrouvée sur les surfaces dépend de plusieurs facteurs comme l'activité humaine qui entraîne un apport de microorganismes par le patient lui-même, par les soignants et par les visiteurs en particulier en l'absence d'un bio-nettoyage efficace (**Méité et al.**, 2010). D'après Rutala et Weber (2001), le contact des patients infectés par des bactéries multi-résistantes avec des surfaces inertes rend ces dernières contaminées. Le personnel médical, les travailleurs et d'autres patients peuvent être contaminés par contact direct avec ces surfaces

qui par la suite, deviendront un réservoir secondaire de transmission des germes résistants aux antibiotiques au sein de l'hôpital.

Ces souches sont également isolées des surfaces en contact avec le personnel comme la table des dossiers, matériels médicaux (chariot de soins, paillasse de soins, seringue électrique), bureau, casier et main du personnel. Ces résultats suggèrent l'implication du personnel dans la transmission de microorganismes d'un patient à un autre (**Talon, 1999**). Les principales sources d'infections sont les équipements utilisés directement sur les patients après utilisation sur d'autres patients, le contact avec les mains et les gants du personnel ou la contamination de l'environnement (**Cookson, 2005**). Les insectes sont aussi incriminés dans cette transmission comme les moustiques. Elle s'infecte à la suite d'un repas sanguin sur un sujet infecté par la suite le moustique peut infecter une personne saine par une simple pique (**Billker et al., 1998 ; Tiburcio et al., 2012**).

Des travaux nationaux et internationaux ont rapporté la contamination par des souches d'*A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E. cloacae* et *K.pneumoniae* multi-résistantes isolées de l'environnement hospitalier proche des patients tels que, les draps, bordure du lit, les couvertures et des équipements médicaux. 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 ; Obeidat et al., 2014 ; Stoesser et al., 2014 ; Bouguenoun et al., 2016 ; Zenati et al., 2016**).

Les entérobactéries sont la cause la plus fréquente d'infections nosocomiales et communautaires. Elles sont généralement traitées par des bêta-lactamines dont les céphalosporines à large spectre et les carbapénèmes (imipénem, méropénem, ertapénem), ou encore les fluoroquinolones, aminosides et colistine. Au cours des deux dernières décennies, on observe une augmentation importante de la résistance des entérobactéries à ces antibiotiques, en particulier *E. coli* et *K. pneumoniae*. Les bactéries productrices de BLSE constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multi-résistance aux antibiotiques. En effet, les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à Gram négatif, mais les entérobactéries représentent les bactéries les plus incriminées (**Gniadkowski. 2001**).

Dans cette étude, l'incidence de souches d'entérobactéries productrices de BLSE était de 48.07% (25/52) (4/21 sur MERO et 11/31 sur CTX). Cette prévalence correspond à celle

retrouvée dans certaines études où des taux élevés de souches d'entérobactéries productrices de BLSE d'origine clinique ont été rapportées, soit 39.22% à Tlemcen (**Baba Ahmed-KaziTani et al.** 2013), et 31.4% à Annaba (Nedjai et al. 2012). par conte elle est très élevée par rapport à celle observée (9%) chez les souches isolées de l'environnement hospitalier (**Touati et al.**, 2010 ; **Zenati et al.**, 2017). En Algérie, des souches de *K. pneumoniae* et d'*E. cloacae* productrices de β -lactamases de type CTX M-15 et CTXM-3 ont été déjà décrites sur des prélèvements de surfaces (**Touati et al.**, 2007 ; **Zenati et al.**, 2017) de l'environnement hospitalier.

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des 52 souches identifiées montre la résistance à la plupart des β -lactamines testées. Un total de 20/62 souches sont résistantes aux carbapénèmes, antibiotique de premier choix dans le traitement des infections sévères à bactéries productrice de BLSE ou multi-résistantes. La résistance élevée aux carbapénèmes chez les souches *A. baumannii* rapporté dans cette étude concorde avec celle rapporté par Zenati et collaborateurs en 2016 par la production de carbapénémase de classe D (OXA-23) et de la class B (NDM-1).

La résistance aux C3G observée peut être expliquée par la surexpression de la céphalosporinase chromosomique constitutive due à l'insertion de la séquence Isab1 en amont du gène bla-AmpC (**Bertrou et al.**, 2000). La résistance acquise aux carbapénèmes (imipénème) chez *P. aeruginosa* s'exprime que si la perte de la porine OprD2 est accompagnée d'une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique (**Philoppon et al.**, 2006). Un résultat similaire a été rapporté en Algérie par **Bouguenoun et al.**, (2016) pour des souches de *P. aeruginosa* d'origine clinique et environnementale. La perte de porines OmpK35 et OmpK36 chez les souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE leurs confèrent une résistance à la céfoxitine et une sensibilité réduite aux carbapénèmes, en particulier à l'ertapénème (**Martínez-Martínez**, 2008).

Chez les entérobactéries, l'OXA-48 a émergé en Turquie à partir d'une souche de *K. pneumoniae* (**Canton et al.**, 2012) et diffusé dans d'autres pays du pourtour méditerranéen notamment en d'Afrique (Liban, Tunisie, Egypte) (**Matar et al.**, 2010 ; **Lahlaoui et al.**, 2012 ; **Mocquet et al.**, 2011). En Algérie, deux études ont rapporté des souches de *K. pneumoniae* productrices d'OXA-48 (**Aggoune et al.**, 2014) et des souches d'*E. coli* (**Agabou et al.**, 2014).

Ainsi, des résistances croisées sont observées avec les aminosides et fluoroquinolones. Toutefois ces BGNs restent sensible à la colistine. Récemment, en Yamen, des souches productrice de BLSE et résistantes aux b-lactamines présentent également une co-résistance aux aminosides et quinolones d'origines clinique (**Gharout-Sait et al., 2014 ; Yanat et al., 2016**) et environnemental(**Zenati et al., 2017**). Le taux de résistance aux aminosides (Tobramycine) est très élevé pour les souches d'*A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*. Cette résistance peut être lié à la production d'enzyme qui sont de type acétylase, adénylase et phospho-transférases (**Courvalin et al., 2006**).

Malgré les effets secondaires, notamment néphro et neurotoxique, la colistine est utilisée avec succès dans le traitement de bactériémies à *A. baumannii* et *P. aeruginosa* Multi-résistantes en association avec d'autres familles d'antibiotiques (**Saidani et al., 2006**). Les résultats de cette étude montre une sensibilité de toutes les souches étudiées à la colistine 100%. La résistance à la colistine chez les souches d'*A. baumannii* a été détectée pour la première fois en Algérie au CHU Béni-Messous d'Alger (**Bakour et al., 2014**). Récemment la résistance plasmidique par le gène *mcr-1* a été rapportée par **Yanat et al.,** en (2016) chez des souches cliniques d'*E.coli*.

Ces résultats confirment la capacité des souches hospitalières à résister aux antibiotiques utilisés en thérapeutique. L'ampleur des infections nosocomiales est liée à la capacité des souches bactériennes à survivre plus ou moins longtemps dans l'environnement hospitalier (surfaces, paillasses, sol, murs, tables d'opération, air, matériel médical, tissus, etc...). En effet, les souches résistantes ont une grande capacité d'adaptation aux conditions environnementales et l'utilisation d'un produit biocide à des doses sub-létales constitue un des facteurs favorisant l'émergence de souches résistantes (**Crepy, 2005**).

L'émergence croissante des bactéries productrices de BLSE et de carbapénémase est liée à l'utilisation des antibiotiques à large spectre. Leur implication dans les infections nosocomiales et communautaires nécessite une vigilance clinique, microbiologique et thérapeutique vu leur profil de résistance particulier aux antibiotiques. Les techniques de laboratoire de bactériologie permettent de détecter en routine la présence de BLSE. Par contre, la détection des carbapénémases reste peut méconnaissable des praticiens et difficile à détecter.

La prévention reste le seul moyen pour limiter le risque d'infections et repose sur la maîtrise des règles d'hygiène et d'asepsie. L'utilisation des bonnes méthodes de désinfections et du nettoyage des surfaces et des matériaux médicaux contribue à la diminution de la population des bactéries multi-résistantes (**Mounier et al.**, 2009). Pour cela, l'émergence de ces souches permet de rappeler qu'il est évidemment nécessaire d'être attentif aux divers types de souches qui circulent dans nos hôpitaux.

Des mesures d'hygiène strictes restent indispensables au sein des services pour limiter la diffusion de ces souches multi-résistantes, on note : L'hygiène des mains et de l'environnement hospitalier (surface, air, eau,...), tenue de protection, port de gants, gestion du matériel et des surfaces souillées, circuit du linge, des déchets et des prélèvements biologiques, la détection précoce des porteurs lors de leur admission dans les unités de soins intensifs à l'hôpital et le renforcement des mesures d'hygiène autour des patients porteurs (application des précautions contact,...) et surtout la sensibilisation du personnel soignant et des agents d'entretien concernant le risque de ces BMR souvent sous-estimé.

C ONCLUSION

Actuellement, et après plusieurs études faites sur l'environnement hospitalier, on assiste à l'émergence des bactéries Gram négatifs multi-résistantes. Leurs disséminations dépendent d'une part des réservoirs, d'autre part de la transmission des germes. Les différents réservoirs potentiels de ces bactéries sont les patients eux même, le personnel soignant, le matériels médical, et l'environnement.

Ce travail a porté sur l'isolement, l'identification, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de bacilles Gram négatifs (BGN) dont l'objectif est de définir le profil de résistance aux carbapénèmes et aux C3Gces souches isolées en réanimation dans la Clinique S'Bihi Tassadit de Tizi-Ouzou et l'EPH Mila, Algérie.

La majorité des souches d'entérobactéries productrices de BLSE présentent des niveaux de résistance élevés vis-à-vis de la plupart des β -lactamines testés à l'exception de l'imipénème qui reste actif sur la plupart des souches étudiées. En revanche, une co-résistance fréquentes a été remarqué vis-à vis des aminosides et fluoroquinolones. Ces résultats confirment que l'environnement hospitalier dans le service de réanimation est fréquemment contaminé par des BMR malgré les mesures d'hygiène renforcé.

Un nombre considérable des souches d'entérobactéries productrices de carbapénimases présentent des niveaux de résistance élevés vis-à-vis des carbapénèmes utilisés (IMP, MERO, E RTP) dont 2 souches révélées par test CIM sont résistantes au Meropénème (*A.baumannii*, *K.pneumoniae* et *Enterobacter*) ainsi que 2 autres souches productrices de carbapénémases probablement de type OXA-48 révélées par l'antibiogramme à la timocilline (*A.baumannii*, *K.pneumoniae*, *Enterobacter*).

Au vu de l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude, nous souhaitons donc avoir la possibilité de poursuivre nos travaux fondamentaux, dans le cadre d'une équipe de recherche de l'université ou de l'hôpital ; afin de contribuer à une meilleure compréhension des phénomènes de résistance bactérienne aux antibiotiques, et de parvenir à une maîtrise plus efficace des conséquences.

Pour conclure, la diffusion de souches multi-résistantes, d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et de carbapénémases dans nos hôpitaux constitue une menace de santé publique, réduisant de manière importante les alternatives thérapeutiques pour le traitement des infections sévères.

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

- L'utilisation d'autre technique phénotypique pour la détermination des mécanismes incriminés dans la résistance aux carbapénèmes (CARBA NP test, test à EDTA, test Acide boronique) et de la résistance aux C3G (test de synergie à la cloxacilline).
- La détermination de l'efficacité des produits utilisés dans la désinfection des surfaces et des locaux.
- Capacité des souches à persister dans l'environnement hospitalier.
- L'étude moléculaire pour déterminer les mécanismes impliqués dans la résistance aux antibiotiques et autres agents antibactériens.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

AARN (RéseauAlgérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques). (2018). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques : 17ème Rapport d'évaluation (de Janvier à décembre 2016). 76p. www.sante.dz/aarn.

AARN (RéseauAlgérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques). (2016). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 15ème Rapport d'évaluation (de Janvier à décembre 2014). 137p. www.sante.dz/aarn

AARN (RéseauAlgérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques). (2017). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 16ème Rapport d'évaluation (de Janvier à décembre 2015). 113p. www.sante.dz/aarn

AgabouA, PantelA,OuchenaneZ, LezzarN, Khemissi S, SattaD. (2014). First description of OXA-48-producing Escherichia coli and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. Eur J ClinMicrobiol Infect Dis 33: 1641–1646.

B

Blanc C., Bun-Buisson C., Fourgs M., Gluckman E., Joffre F., Laveran H., Lejeune B., Lory A., Meites G., Planche P., Ribaud P., Rouseau H. et Teyssier. (1998). Hygiène des unités de soins. In :HygièneHospitalière. Ed. Presses Universitaires de Lyon. Lyon. 501-552.

Billker O., Lindo V., Panico M., Etienne A. E, Paxton T., Dell A., Rogers M., Sinden R. E, Morris H. R. (1998). Identification of xanthurenic acid as the putative inducer of malaria development in the mosquito. Nature 392: 289-292.

Blazejewski C. Wallet F. etNseir S. (2014). Quoi de neuf dans les techniques de désinfection des chambres de réanimation? Reanimation. 23(3): 256-262.

Baba Ahmed-KaziTani Z. etArlet G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. Pathol. Biol. 62: 169-78.

- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39:1211-33.
- Bertrou A., Chapuis C. et Hajjar J. (2000). Relations entre contamination et environnement hospitalier. In : *Vigilance Environnementale : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier.* Hygienes. 8 (3): 142-146.
- 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.
- Bedos J.P., Allaouchiche B., Armand-Lefèvre L., Baldesi O., Bouadma L., Decré D., Figueiredo S., Gauzit R., Guery B., Joram N., Jung B., Lasocki S., Lepape A., Lesage F., Pajot O., Philippart F., Souweine B., Tattevin P., Timsit J.F., Zahar J.R., Bretonnière C., Leone M., Milési C. et Misset B. (2014). Stratégies de réduction de l'utilisation des antibiotiques à visée curative en réanimation (adulte et pédiatrique). *Réanimation.* 23:558-582.
- Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp . *Antimicrob Agents Chemother.* (2005); 49:776-781.
- Biendo M., Manoliu C., Laurans G., Castelain S., Canarelli B., Thomas D., Hamdad F., Rousseau F., and François E. (2008). Molecular typing and characterization of extended spectrum TEM, SHV and CTX-M β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae*. *Res Microbiol.* 159: 590-594. 8.
- Bakour S, Kempf M, Touati A, AitAmeur A, Haouchine D, Sahli F, Rolain JM. (2012). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J. Med. Microbiol.* 61:1341-1343
- Bakour S., Olaitan A. O, Ammari H., Touati A., Saoudi S., Saoudi K., Rolain JM. (2014). Emergence of colistin-and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 clinical isolate in Algeria. First case report. *Microb Drug Resist.* 21(3):279-85.
- Biendo M., Manoliu C., Laurans G., Castelain S., Canarelli B., Thomas D., Hamdad F., Rousseau F., and François E. (2008). Molecular typing and characterization of extended

spectrum TEM, SHV and CTX-M β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae*.
Res Microbiol. 159: 590-594.

Bush K., George A., Jacoby. (2010). Updated Functional classification of β -lactamases.
Antimicrob Agents Chemother. Rev.54:969-976.

C

Cantón R., González-alba J.M. et Galán J.C. (2012). CTX-M enzymes : origin and diffusion.
Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy. 3: 1-19.

Cattoen. C.(2015).Persistence du portage de bactéries multi-résistance après la réanimation.24(3): 249-255.

CA-SFM. 2010. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
Communiqué 2010. Société Française de Microbiologie, Paris,France:
<http://www.sfm.asso.fr>

CA-SFM. 2013. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
Communiqué 2013. Société Française de Microbiologie, Paris,France:
<http://www.sfm.asso.fr>

- CA-SFM. 2010. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
Communiqué 2010. Société Française de Microbiologie, Paris,France:
<http://www.sfm.asso.fr>

Cookson B. (2005). Clinical significance of emergence of bacterial antimicrobial resistance in the hospital environment. J. Appl. Microbiol. 99(5): 989-996.

Cavallo J.D., Antoniotti G., Baffo N.Y., Condrais G.S., Hajjar J., Horn C., Le Gouhir C., Le Guyader A., Le jeune B., Mounier M. et Salomon V. (2002). Surveillance Microbiologique de l'Environnement dans les Etablissements de Santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN. France. 70.

Cookson B. (2005). Clinical significance of emergence of bacterial antimicrobial resistance in the hospital environment. J. Appl. Microbiol. 99(5): 989-996.

Cattoir V. et Leclercq R. (2013). Évolution des résistances bactériennes en réanimation.

Courvalin P., Leclerc R., Bingen E. (2006). 2eme Ed. Antibiotigramme. Paris:ESKA.349363.

Crepy M. N. (2005). Dermatoses professionnelles aux détergents. Documents pour le Médecin du travail N°103,3eme trimestre. 72 :37-84.

D

- Dancer SJ. How do we assess hospital cleaning ; A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. *J Hosp Infect* (2004); 56 : 10-15.
- Donskey C. J. (2006). Antibiotic Regimens and Intestinal Colonization with Antibiotic Resistant Gram-Negative Bacilli. *Clin Infect Dis*. 43 : S62-69.
- 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.

F

- French G. L, Otter J. A, Shannon K. P, Adams N. M. T, Watling D, and Parks M. J. (2004). Tackling contamination of the hospital environment by methicilline-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a comparison between conventional terminal cleaning and hydrogen peroxide vapor decontamination. *J Hosp infect*. 57:31-37.

G

- Gharout-Sait A., Touati A., Guillard T., Brasmec L. et De Champs C. (2015). Molecular characterization and epidemiology of cefoxitin resistance among *Enterobacteriaceae* lacking inducible chromosomal ampC genes from hospitalized and non-hospitalized patients in Algeria: description of new sequence type in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Braz. J. Infect. Dis*. 19: 187-195.
- Gharout-Sait., Touati A., Benallaoua S., Guillard T., Brasme L., Madoux J., Champ C. (2012). CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *African journal of microbiology Research*. 6: 5306-5313.
- Gebel J., Exner M., French G., Chartier Y., Christiansen B., Gemein S., Goroncy-Bermes P., Hartemann P., Heudorf U., Kramer A., Maillard J.Y., Oltmanns P., Rotter M., Günther M. et Sonntag H.G. (2013). The role of surface disinfection in infection prevention. *GMS Hygiene and Infection Control*. 8(1): 1-12.

H

- Haddadi A. (2013). Construction d'un score prédictif du risque nosocomial pour des patients de réanimation. Thèse de doctorat d'épidémiologie, économie de la santé et prévention. Université de droit et de la santé Lille 2.
- Hamza R. (2010). Epidémiologie des infections associées aux soins. Revue Tunisienne d'Infectiologie - Janvier 2010, Vol.4: 1 – 4.

J

- Jarlier V., Nicolas M. H., Fournier G., et Philippon A. (1988). Extended-broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae* : hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 10: 867-878.

K

- Kramer A. et Assadian O. (2014). Survival of Microorganisms on Inanimate Surfaces. In : Use of Biocidal Surfaces for Reduction of Healthcare Acquired Infections. Ed. Springer Switzerland. 7-26.

L

- Lebeaux D., Lucet J.C. et Barbier F.S. (2016). Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm : implications en réanimation; Réanimation. 25:308–317.
- Lucet JC, Intérêt du Dépistage du Staphylocoque doré Résistant à la Méthicilline en Réanimation. Ann Fr Anesth Réanim, 2002. 21: p. 384-91.
- Lucet, J.C., Decré, D., Fichelle, A., Joly-Guillou, M.L., Pernet, M., Deblangy, C., Kosmann, M.J., and Regnier, B. 1999. Control of a prolonged outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *enterobacteriaceae* in a university hospital. Clin Infect Dis. 29: 1411–1418.

Lepelletier D., Ferréol S., Villers D. et Richet H. (2004). Infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline en réanimation médicale polyvalente : facteurs de risque, morbidité et impact économique *Pathologie Biologie*. 52: 474-479.

Liassine N. (2000). Problème des pathogènes Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*. 130(50): 1930-1936

M

Mathers A.J., Peirano G. et Pitout J.D.D. (2015). The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Clin. Microbiol. Rev.* 28(3) : 565-591.

Martínez-Martínez L. (2008). Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clin. Microbiol. Infect.* 1: 82-9.

Mesli E., Berrazeg M., Drissi M., Bekkhoucha S.N. et Rolain J.M. (2013). Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *Int. J. Infect. Dis.* 17: 739-43.

Méité S., Boni-cissé C., Monemo P., MlanTonoa A. P, Faye-Ketté H., Dosso H. (2010). Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau Tertiaire : exemple du CHU de Yopougon, abidjan, Côte Divoire. *International journal of pharmacy and biological science*. 11(1) :73-81.

Mounier M., Pestourie N., Denis F. (2009). Les détergents et les désinfectants : rôle en médecine (1ere partie). 11(3) :177-184

Minor C., and Richard C. (1993). Notes techniques. In : *Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries*. Ed. Institut Pasteur. Paris. 217p.

Medeiros A.A, β -lactamases. *Bnt. Med. Buli*, 1984, 40: 18-27. *Antimicrob. Agents Chemother* Papanicolaou, G.A., Medeiros, A.A., and Jacoby, G.A. 1990. Novel plasmid mediated beta lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. 34: 2200-2209.

N

Njall C., Adiogo D., Bitá A., Ateba N., Sume G., Kollo B., Binam F., Tchoua R. (2013). Faculté Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun Clotilde. Pan African Medical Journal. 1937-8688.

O

OMS méditerranée (Organisation Mondiale de la Santé : Bureau régional de la Méditerranée orientale).(2017.) Comité régional de la Méditerranée orientale. Soixante-quatrième session. EM/RC64/6. 12p.

Oliveira AC, Damasceno QS. Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria: a review. Rev Esc Enferm USP 2010;44:1112–1117. Infectiologie En Réanimation. 37–54.

O'Shea M. K. (2012). Acinetobacter in modern warfare. Int J Antimicrob Agents. 39:36375.

Otter J.A., Vickery K., Walker J. T., Pulcini E., Stoodley P., Goldenberg S.D. et Edgeworth J. D. (2014). Susceptibility : implications for hospital cleaning and disinfection. Journal of Hospital Infection. 44: 1-12.

P

Philipplon et Arlet. (2006). β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. Annales de Biologie Clinique. Volume 64, Revue générale. 1 : 37-51

Q

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

R

Rodriguez-Villalobos H., Struelens M.-J. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. 15 (3): 205-213.

Réseau REA-RAISIN. (2013). Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte, France, Résultats 2012. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire. 38 p.

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. Cattoen C. (2015). Persistence du portage de bactéries multirésistantes après la réanimation. *Reanimation.* 24(3): 249-255.

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

Saouide el ayne N., Adil E., Abedelaziz C., Nabila A., Samir H. et Abdelmajid S. (2014). Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales : surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital el IDRISSI de Kenitra - Maroc. *European Scientific Journal* March. 10(9), 238-247.

Saïdani M., Boutiba, I., Ghazzi, R., Kammoun, A., & Ben Redjeb, S. (2006). Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Medecine et Maladies Infectieuses.* 36(3): 163–166. Dancer S.J. (2014). Controlling hospital-acquired infection: Focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clinical Microbiology Reviews,* 27(4): 665–690.

Santé Publique France. (2017). Enquête nationale de prévalence (2017) des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé. Guide de l'enquêteur. 88p.

T

Tallon D, (1999). The role of the hospital environment in the epidemiology of multiresistant bacteria. *Journal of Hospital Infection.* 43:311-7.

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

Touati A., Zenati K., Brasme L., Benallaoua S. et De Champs C. (2010). Extended-spectrum β -lactamase characterisation and heavy metal resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated from hospital environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* 75: 78-9.

Touati A., Brasme L, Benallaoua S., Madoux J., Gharout A. and De Champs C. (2007). *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing CTX-M-15 recovered from hospital environmental surfaces from Algeria. *J Hosp Infect.* 183-185

Touati A. Benallaoua S., Forte D., Madoux J., Brasme L., de Champs C. (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bejaia, Algeria. *International Journal of Antimicrobial.* 397-402.

V

Vallée M. (2015). Résistance aux β -lactamines à large spectre chez les bactéries à gram négatif: épidémiologie et diagnostic. Maîtrise en microbiologie-immunologie. Université Laval. 137p.

Van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister GN., Bootsma HJ., de Neeling AJ., Schouls LM. (2015). The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram Negative Rods. *Plos ONE* 10 (3) : e0123690.

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

W

Woodford N, Turton JF, Livermore DM. (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 35:736-55.

Y

Yanat B. et Touati A. (2016). Plasmid-mediated quinolone resistance in *Enterobacteriaceae* : a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1-15.

Yanat B., Jesus M. (2016). First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents.*

Z

Zenati K., Sahli F., Garciab V., Bakour S., Belhadi D., Rolain J.M., Touati A. (2017). Occurrence and clonal diversity of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* recovered from inanimate surfaces in Algerian hospital environment: First report of *armA*, *qnrB* and *aac(60)-Ib*-crgenes. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 10: 148–153.

Zenati K, Touati A, Bakour S, Sahli F, Rolain JM. Characterization of NDM-1 and OXA-23 producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in hospital environment in Algeria. *J Hosp Infect* (2016); 92: 19-26.

ANNEXE

Annexe I

Composition des milieu de culture (g/l d'eau distillée) (Minor et Richard, 1993)

Gélose Mac conckey

• Peptone de caséine.....	17g
• Peptone de viande	03g
• Lactose.....	10g
• Mélange de sels biliaires.....	1,5g
• Rouge neutre.....	0, 03g
• Chlorure de sodium.....	05g
• Cristal violet.....	0, 001g
• Agar.....	13,5g

• PH=7,1

Gélose de Miller Hinton

• Infusion de viande de bœuf.....	2g
• Hydrolysate de caséine.....	17,5g
• Amidon.....	1,5g
• Agar.....	17g

• PH=7,4

Gélose TSI

• Extrait de viande.....	03g
• Extrait de levure.....	03g
• Peptone tryptique.....	20g
• Chlorure de sodium.....	05g
• Lactose.....	10g
•• Glucose.....	01g
• Thiosulfate de sodium.....	0,3g
• Rouge de phénol.....	0,025g
• Sulfate ferrique.....	0,2g
• Agar.....	12g

• PH=7,3

Milieu Citrate de Simmons

• Phosphate d'ammonium.....	01g
• Phosphate bipotassique.....	01g
• Chlorure de sodium.....	05g
• Citrate de sodium.....	05g

- Sulfate de magnésium.....0,20g
 - Bleu de bromothymol.....0,80g
 - Agar.....18g
- PH=6,9

Bouillon nitraté

- Infusion de cœur cervelle.....25g
 - Nitrate de sodium.....10g
- PH=7,6

Bouillon nutritif

- Macération de viande.....10g
 - Peptone.....05g
 - Chlorure de sodium.....05g
- PH=7,3

Milieu Clarck-lubs

- Peptone trypsine de viande
 - Glucose.....06g
- PH=7

Milieu Urée –indole

- Urée.....02g
 - L-Tryptophane.....03g
 - Chlorure de sodium.....0,5g
 - Dihydrogénophosphate de potassium.....0,1g
 - Rouge de phénol.....0,0025g
- PH=7

Eau peptone exemple indole

- Peptone exemple d'indole.....10g
- Chlorure de sodium.....05g

Composition des réactifs utilisés

NRI

- Acide sulfanique.....0,8ml
- Acide acétique5N100ml

NRII

- Diméthylamine.....0,6g
- Acide acétique 5N.....100ml

Réactif de Kovac

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

Rouge de méthyl(RM)

- Rouge de méthyl.....0,5ml
- Alcool éthylique à 60 %.....100ml

Réactifs de voges-proskauer

VPI

- α -naphthol.....06g
- Alcool à 90°100ml

VPII

Annexe II

Tableau I: Aspect des colonies sur milieu Chromagar

Espece	Couleur des colonies
<i>K. pneumoniae</i>	Colonies bleu vert à bleues ou sans auréole violette
<i>Enterobacter Sp</i>	Colonies bleu vert à bleues ou sans auréole violette
<i>A. baumannii</i>	Colonies muqueuses Blanche opaque
<i>P. aeruginosa</i>	Colonies muqueuses Blanche Brunatre
<i>E. coli</i>	Colonies de taille moyenne à grande, rose foncé à roses, transparentes, avec ou sans auréole dans le milieu environnant
<i>Proteus</i>	Colonies de taille moyenne, pales à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron

Annexe III

Tableau II: Résultats d'identification des souches par galerie biochimique classique.

souches	TSI				Citrate de Simon	Clart et Lubs		Bouillon Nitraté	Eau Péptonée	Urease	Croma Agar	Groupe	Espèces
	Glu	Lac	Gaz	H2O		RM	VP						
M-Réa 01 (CTX)	+	+	+	-	Positif	-	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K. oxytoca</i>
ST-Réa 05 (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Négatif	Positif	Négatif	JAUNE	PSEUDO	<i>Pseudomonas</i>
SC03 (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Négatif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
B (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Négatif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
01 A (CTX)	+	+	+	-	Négatif	-	-	Négatif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
01 B (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumonie</i>
05 (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Négatif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumonie</i>
07 (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
08 A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
08 B (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumonie</i>
08 C (CTX)	+	+	-	-	Négatif			Positif	Positif	Positif	Blanche	Acinito	<i>A. baumannii</i>
10 A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
10 B (CTX)	+	+	+	-	Positif	-	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
11 A (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
11 B (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
13 A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
13 B (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
13 C (CTX)	+	+	+	+	Positif	-	-	Négatif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
15 A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Négatif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
22 (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Négatif	Positif	Négatif	Rose	/	<i>E coli</i>
26 A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Négatif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
26 B (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Négatif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
27 (CTX)	+	+	+	-	Négatif	-	-	Négatif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
32 A (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
32 B (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
36 (CTX)	+	+	+	-	Négatif	+	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
37 (CTX)	+	+	+	+	Négatif	-	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
44 (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
52 A (CTX)	+	+	+	-	Positif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumonie</i>
52 B (CTX)	+	+	-	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumonie</i>
A-Réa 03 (MERO)	+	+	-	-	Négatif	+	-	Positif	Négatif	Négatif	BLEU	KES	<i>Enterobacter sp</i>
A-Réa 04 A (MERO)	-	-	-	-	Positif	-	-	Négatif	Négatif	Positif	BLEU	KES	<i>K pneumoniae</i>
A-Réa 04 B (MERO)	+	+	-	-	Positif	+	-	Négatif	Négatif	Négatif	bleu	KES	<i>Enterobacter sp</i>
A-Réa 05 (MERO)	-	-	-	-	Positif			Négatif	Négatif	Négatif	blanche	acinito	<i>A. baumannii</i>
A-Réa 10 (MERO)	+	+	-	-	Positif	+	-	Positif	Négatif	Négatif	blanche	acinito	<i>A. baumannii</i>
S-Réa 03 (MERO)	+	+	+	+	Positif	+	-	Positif	Négatif	Négatif	blanche	acinito	<i>A. baumannii</i>

S-Réa 07 (MERO)	- - - -	Positif	-	Positif	Négatif	Négatif	blanche	acinito	<i>A. baumannii</i>
02 (MERO)		Négatif		Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
05 A (MERO)		Positif	+ -	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
06 (MERO)		Positif	+ -	Négatif	Négatif	Positif	BLEU	KES	<i>K pneumoniae</i>
07 (MERO)		Positif	- -	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
08 (MERO)		Négatif	- -	Négatif	Positif	Positif	BLEU	KES	<i>K. oxytoca</i>
10 (MERO)		Positif	- -	Négatif	Négatif	Négatif	BLEU	KES	<i>Enterobacter sp</i>
11 (MERO)		Négatif	+ -	Positif	Négatif	Négatif	BLEU	KES	<i>Enterobacter sp</i>
11 B (MERO)		Positif	+ -	Positif	Négatif	Positif	bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
14 (MERO)	+ + + -	Positif	- -	Positif	Négatif	Négatif	BLANCHE	ACINITO	<i>A. baumannii</i>
19 (MERO)	+ + + +	Positif	- -	Positif	Négatif	Positif	Bleu	KES	<i>K pneumoniae</i>
23 (MERO)	+ + + +	Positif	+ -	Positif	Négatif	Négatif	blanche	Acinito	<i>A. baumannii</i>
24 (MERO)	+ + + -	Positif		Positif	Négatif	Négatif	blanche	Acinito	<i>A. baumannii</i>
43 (MERO)	+ + + -	Positif	- -	Négatif	Positif	Positif	Bleu	KES	<i>K oxytoca</i>
52 (MERO)		Positif	+ -	Positif	Négatif	Négatif	BLEU	KES	<i>Enterobacter sp</i>

Annexe IV : tableau III : Résultat d'antibiogramme

Codes	Souches	AUG	FOX	CTX	FEP	ATM	CAZ	BLSE	TOB	K	CS	CIP
M-Réa 01 (CTX)	K. oxytoca	9(R)	24(S)	13(R)	24(R)	23(S)	19 (R)	Positif	11(R)	17(S)	18(S)	27 (S)
ST-Réa 05 (CTX)	Pseudomonas	R	R	22(S)	34(S)	32(S)	24 (S)	Négatif	29(S)	16 (I)	21(S)	42(S)
SC 03 (CTX)	K oxytoca	R	R	17(R)	28(S)	26(S)	25(S)	Négatif	23(S)	14(R)	17(S)	33(S)
B (CTX)	K oxytoca	R	R	14(R)	24(R)	20(R)	18 (R)	Positif	9(R)	18 (S)	15(S)	17(R)
A (CTX)	K oxytoca	R	25(S)	15(R)	25(I)	24(I)	19 (R)	Positif	11(R)	16 (I)	17 (S)	22(R)
01 A (CTX)	K oxytoca	R	22(S)	11(R)	24(R)	22(I)	18(R)	Positif	10(R)	15(I)	16(S)	20(R)
01 B (CTX)	K pneumoniae	R	23(R)	11(R)	25(I)	22(R)	18(R)	Positif	9 (R)	13 (R)	16(S)	19(R)
05 (CTX)	K pneumoniae	9(R)	23(R)	12(R)	23(R)	21(R)	19 (R)	Négatif	14(R)	13(R)	15(S)	19(R)
07 (CTX)	K pneumoniae	R	25(S)	14(R)	25(I)	23(I)	20 (I)	Négatif	10 (R)	14(R)	16(S)	20(R)
08 A (CTX)	K oxytoca	10(R)	27(S)	15(R)	26(I)	25(I)	20(I)	Positif	12(R)	15(I)	17(S)	25(I)
08 B (CTX)	K pneumoniae	10(R)	25(R)	10(R)	22(R)	25(I)	20 (I)	Positif	11(R)	16 (I)	18(S)	23(R)
08 C (CTX)	Acinetobacter	10(R)	R	R	17(R)	9(R)	8 (R)	Négatif	14 (I)	17(S)	19(S)	22(S)
10 A (CTX)	K pneumoniae	9(R)	22(S)	12(R)	21(R)	20(R)	17 (R)	Négatif	9(R)	18(S)	20(S)	17(R)
10 B (CTX)	K pneumoniae	8(R)	25(S)	14(R)	28(S)	22(I)	17 (R)	Positif	10(R)	19(S)	21(S)	20(R)
11 A (CTX)	K pneumoniae	R	25(S)	12(R)	26(S)	22(I)	14 (R)	Négatif	9(R)	20(S)	22 (S)	19(R)
11 B (CTX)	K oxytoca	9(R)	25(S)	19(I)	25(I)	21(I)	20(I)	Positif	9(R)	21(S)	23(S)	20(R)
13 A (CTX)	K oxytoca	9(R)	22/S	8(R)	15(R)	15 (R)	11 (R)	Positif	9(R)	22(S)	24(S)	20(R)
13 B (CTX)	K pneumoniae	8(R)	20(S)	14(R)	20(R)	20(R)	17(R)	Positif	9(R)	23 (S)	25(S)	20(R)
13 C (CTX)	K pneumoniae	R	7(R)	9(R)	24(I)	25 (I)	10(R)	Négatif	10(R)	24(S)	26(S)	25(I)
15 A (CTX)	K pneumoniae	R	23(S)	12(R)	25(I)	23(I)	13(R)	Positif	10(R)	26(S)	28 (S)	20(R)
22 (CTX)	E coli	35(S)	29(S)	25(S)	27(S)	R	R	Négatif	30(S)	27(S)	29 (S)	24(I)
26 A (CTX)	K pneumoniae	9(R)	22(S)	11(R)	23(R)	2 (R)	15 (R)	Positif	R	28(S)	30 (S)	15(R)
26 B (CTX)	K pneumoniae	9(R)	24(S)	13(R)	20(R)	21 (I)	15 (R)	Positif	8 (R)	29 (S)	31(S)	20(R)
27 (CTX)	K pneumoniae	9(R)	24(R)	11(R)	19(R)	20(R)	15(R)	Positif	10(R)	30(S)	32 (S)	21(R)
32 A (CTX)	K pneumoniae	R	23(R)	12(R)	23(R)	23 (I)	17(R)	Positif	11(R)	31(S)	33(S)	20(R)
32 B (CTX)	K pneumoniae	R	25(S)	13(R)	26(S)	25(I)	20(I)	Positif	11(R)	32(S)	34(S)	23(R)
36 (CTX)	K oxytoca	R	22(S)	13(R)	25(I)	22(I)	17(R)	Positif	11(R)	33 (S)	35(S)	22(R)
37 (CTX)	K oxytoca	9 (R)	22(S)	13(R)	20(R)	20(R)	18(R)	Positif	9(R)	34(S)	36(S)	20(R)
44 KP (CTX)	K oxytoca	R	20(S)	10(R)	22(R)	22 (I)	12(R)	Positif	10(R)	37(S)	39(S)	19(R)
52 B (CTX)	K pneumonie	R	24(S)	13(R)	25(I)	23(I)	19 (R)	Positif	11(R)	38(S)	40(S)	21(R)
52 A (CTX)	K pneumonie	R	23(R)	11(R)	23(R)	22(I)	17(R)	Positif	11(R)	39(S)	41(S)	20(R)

Codes	Souches	AUG	FOX	CTX	FEP	ATM	CAZ	BLSE	TOB	K	CS	CIP	MRP	IMI
A-Réa 03 (MERO)	Enterobacter	9(R)	R	21(S)	21(R)	21(I)	20(I)	Négatif	12(R)	19(S)	20(S)	25(I)	24(S)	25(S)
A-Réa 04 A (MERO)	K pneumoniae	18(S)	R	20(S)	28(S)	23(I)	18(R)	Négatif	25(S)	18(S)	20(S)	30(S)	18(I)	15(R)
A-Réa 04 B (MERO)	Enterobacter	22(S)	R	24(S)	35(S)	30(S)	26(S)	Négatif	26(S)	20(S)	18(S)	33(S)	22(S)	18(I)
A-Réa 05 (MERO)	Acinitobacter	(R)	R	22(I)	40(S)	40(S)	24(S)	Négatif	16(R)	22(S)	22(S)	30(S)	14(R)	18(I)
A-Réa 10 (MERO)	Acinitobacter	22(S)	R	35(S)	40(S)	40(S)	30(S)	Négatif	30(S)	36(S)	21(S)	42(S)	15(I)	16(R)
S-Réa 03 (MERO)	Acinitobacter	R	R	15(I)	20(S)	30(S)	10(R)	Positif	21(S)	25(S)	40(S)	21(S)	R	R
S-Réa 07 (MERO)	Acinitobacter	R	R	10(R)	20(S)	18(R)	9(R)	Négatif	24(S)	26(S)	18(S)	25(S)	18(I)	11(R)
02 (MERO)	K pneumoniae	R	21(S)	8(R)	16(R)	18(R)	08(R)	Négatif	9(R)	14(R)	13(S)	17(R)	24(S)	17(I)
05 A (MERO)	K pneumoniae	9(R)	24(S)	15(R)	20(R)	21(I)	15(R)	Positif	9(R)	17(S)	17(S)	20(R)	28(S)	12(R)
06 (MERO)	K pneumoniae	13(R)	R	16(R)	31(S)	26(S)	20(I)	Négatif	30(S)	33(S)	19(S)	40(S)	15(R)	R
07 (MERO)	K pneumoniae	9(R)	23(S)	10(R)	15(R)	16(R)	12(R)	Positif	9(R)	15(I)	16(S)	21(R)	28(S)	12(R)
08 (MERO)	K oxytoca	R	20(S)	R	R	12(R)	R	Négatif	R	10(R)	19(S)	17(R)	22(S)	12(R)
10 (MERO)	Enterobacter	R	R	R	R	8/R	R	Négatif	10(R)	10(R)	17(S)	R	9(R)	R
11 (MERO)	Enterobacter	8(R)	20(S)	8(R)	9(R)	19(R)	11(R)	Négatif	9(R)	12/R	13(S)	18(R)	23(S)	15(R)
11 B (MERO)	K pneumoniae	R	R	R	R	8/R	R	Négatif	10(R)	12/R	16(S)	20(R)	12(R)	9(R)
14 (MERO)	Acinitobacter	R	R	20(S)	27(S)	20(I)	22(S)	Négatif	28(S)	28/S	16(S)	32(S)	19(R)	8(R)
19 (MERO)	K pneumoniae	R	R	R	R	8/R	R	Négatif	9(R)	7(R)	15(S)	R	R	R
23 (MERO)	Acinitobacter	12(R)	R	R	25(S)	13/R	11(R)	Négatif	28(S)	29/S	9(S)	24(S)	11(R)	17(I)
24 (MERO)	K pneumoniae	R	R	18(I)	30(S)	30/S	27/S	Négatif	23(S)	12(R)	19(S)	33(S)	29(S)	R
43 (MERO)	K oxytoca	R	24(S)	11(R)	23(R)	22(I)	18(R)	Négatif	9(R)	13(R)	16(S)	17(R)	29(S)	08(R)
52 (MERO)	Enterobacter	R	R	R	R	R	R	Négatif	9(R)	8(R)	15(S)	R	R	R

Annexe IV : tableau III : Résultat d'antibiogramme(suite)

Résumé :

Objectif : Caractérisation de la multirésistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif isolés dans l'environnement hospitalier des deux réanimations (EPH Mila, clinique s'bihi tassadit Tizi-ouzou).

Méthodes : Un total de 104 prélèvements a été effectué à partir de différentes surface d'environnement hospitalier durant une période de 4 mois (du mois de février au mois de mai 2018). 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 additionné de 32ug/ml de voncomycine pour l'élimination des gram positif, sur gélose Mac Conkey additionnée de 4 µg/ml de céfotaxime pour la sélection des BGN résistants aux céphalosporines de 3^{ème} 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 : 52 souches de bacilles à Gram négatif ont été identifiées dont 31 entérobactéries isolées sur milieu au CTX et 21 BGN (*Entérobactéries*, *Pseudomonas* et *A. baumannii*) isolées sur milieu au méropénème. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré que ces souches sont multirésistantes mais toutes ces souches restent sensibles à la colistine. Le test de synergie a été positif pour 25 souches indiquant la production probable d'une BLSE par contre deux souches seulement été considérées comme productrices d'une carbapénémase.

Conclusion : Les résultats rapportés montrent que l'environnement hospitalier est contaminé par les BGN multirésistantes et présentent de ce faite un danger de santé publique une fois retrouvés dans l'environnement naturel.

Mots clés : Environnement hospitalier, Bacilles à Gram négatif, BLSE, Carbapénémase, Multirésistance aux antibiotiques.

Abstract:

Objective: Characterization of multiresistance to antibiotics, Gram-negative bacilli isolated from hospital environment from two reanimation service réanimations (EPH Mila, clinique 's'bihi tassadit'tizi-ouzou).

Methodology: a total of 104 samples taken from different hospital areas during a four-month period (from February to May 2018). Isolation was done on Mac Conkey agar supplemented with meropenem at 0.5 µg / ml for selection of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli and vancomycin at 32 µg / ml for elimination of Gram-positive, The search for gram-negative gram-resistant third-generation cephalosporins was carried out on Mac Conkey agar supplemented with 4 µg / ml of cefotaxime and 32 µg / ml of vancomycin..The isolated strains have been the subject of a conventional identification.The characterization of the sensitivity for β-lactamines and other family of antibiotics was realized by standard antibiogram on MH agar and the resistance phenotypes at β-lactamines have been studied by D-D test, CIM test and sensitivity for temocilline.

Resultat: A total of 52 strains of Gram-negative bacilli were identified, whose 31 *Enterobacteriaceae* isolated on medium with CTX and 21 Gram-negative bacilli (*Enterobacter*, *Pseudomonas*, *A. baumannii*) isolated on medium with MERO. The study of the sensitivity of antibiotics showed that these strains are multiresistantes but all this strains are sensitive to colistine. The D-D test was positive for 25 strains indicating a probable production of BLSE however two strains only is considered as a producer of carbapénémases.

Keywords: Multiresistance for Antibiotics, Hospital environment, Gram negative bacilli, BLSE, carbapenemases. Multiresistance for Antibiotics.