

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**  
**Filière : Sciences biologiques**  
**Option : Microbiologie Moléculaire et Médicale**



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Caractérisation de la résistance des bacilles à Gram  
négatif aux antibiotiques isolés des toilettes.**

Présenté par :

**BOUBAZINE ASMA**

Soutenu le : 19/06/2017

Devant le jury composé de :

**Mme SAIDANI**

MAA Président

**Mme. BELHADI**

MAA Encadreur

**Mlle YANAT**

MCB Examinatrice

**Année universitaire : 2016 /2017**



## *Remerciements*

*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein de deux laboratoires : laboratoire de Microbiologie Abdrahmene mira de Bejaia et le laboratoire de parasitologie de l'EPH de Tjjet.*

*J'adresse mes vifs remerciements à ma promotrice Mme Belhadi K pour nous avoir acceptés d'encadrer notre travail, pour sa rigueur scientifique, pour son assistance bien matérielle que morale, pour son aide et son soutien.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aussi à mme Saidani qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aussi à Mlle yemat d'avoir accepté l'invitation comme examinatrice de ce mémoire.*

*Je remercie Mme Bouaziz chef de service de laboratoire de l'hôpital de Tjjet, et toute l'équipe du laboratoire pour leurs soutien leurs aide et leurs conseils.*

# *Dédicaces*

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

*A mes chers parents,  
symbole de reconnaissance  
et de remerciement sur tout ce  
qu'ils m'ont donné dans ma vie.*

*A mes frères Oussama, zack et soheyl*

*A mon neveu Imrane*

*A mes ami(es).*

*A mes collègues sabrina ,sonia et chakra.*

*A toute ma famille*

*A mes collègues du travail l'équipe du Bloc opératoire  
de l'EPH d'Elmitia Tijel*

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1
Matériels et Méthodes .....	5
I-Prélèvements.....	5
II-Isolement et purification.....	6
III-Identification.....	7
IV-Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	7
VI-1-Préparation de l'inoculum et ensemencement des boîtes.....	7
VI-2-lecture.....	7
V- Caractérisation des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	8
V-1-Recherche de la production de BLSE.....	8
V-1-1-test de synergie.....	8
V.-2-2-recherche de production des carbapénèmases par test CIM.....	8
Résultats.....	10
I-Répartition des souches par groupe bactérien et par espèce.....	11
II-Répartition des souches par lieu de prélèvement.....	11
III-Etude de la résistance des souches aux antibiotiques.....	12
III.1.Résistance des souches non fermentaires aux antibiotiques.....	12
III.2.Résistance des souches d'entérobactéries aux $\beta$ -lactamines.....	12
III.3. Résistance des souches d'entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques.....	13
IV-Détermination des phénotypes de résistances aux $\beta$ -lactamines.....	13
IV.1.Recherche de la production de BLSE.....	13
IV.2.Recherche de production de carbapénèmases.....	14
IV.3.Phénotypes de résistances aux $\beta$ -lactamines.....	15
Discussions.....	16
Conclusion.....	19

## Liste des abréviations

**CN** : Gentamycine.

**BOP** :Bloc Opérateur Personnel

**AMC** :Amoxicilline + acide clavulanic.

**ATB** : Antibiotique.

**ATM** : Aztréonam.

**MI** : Médecine Interne

**BGN** : Bacille à Gram Négatif.

**BLSE** :Bétalactamase à spectre étendu.

**BMR** : Bactérie Multi Résistante

**C2G** : Céphalosporine de 2<sup>ème</sup> génération.

**C3G** :Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération.

**CASFM** :Communié de l'Antibiogramme de la société Française de Microbiologie.

**CIM** :Carbapénème Inactivation Méthode.

**CTX** :Céfotaxime.

**DD-test** : Test de double disk.

**ETP** :Ertapénème.

**IPM** :Imipénème.

**KPC** :*klebsiellapneumoniae*Carbapénémase.

**MBL** :métallo-β-lactamases.

**MEM** :Méropénème.

**URE** :Urée.

**VP** :Réactif de Voges-proskauer.

**UMC** : Urgences Médico-chirurgicales

**MHS** :Medecine Homme service

**Gyn** :Gynecologie service

**CHU** : Centre Hospitalo-Universitaire

**TOB** :Tobramycine

**CIP** : Ciprofloxacine

**CT** : Colistine

**CAZ** :Céftazidime

**MEM** :Meropénème

**IMP** :Imipénème

**ETP**:Ertapénème

**EPH** : Etablissement Publique Hospitalière

**WTO** :wordtoilets organisation

**OIT** : Organisation International du Travail

## Liste des figures :

Numéro	Titre de figure	Page
1	Schéma du test CIM	09
2	Répartition des souches par espèce	11
3	Répartition des souches par lieu de prélèvement	11
4	Taux de résistance des BGN non fermentaire aux antibiotiques	12
5	Taux de résistance des souches d'entérobactéries aux $\beta$ -lactamines	12
6	Taux de résistance des souches d'entérobactéries aux autres antibiotiques	13
7	DD-test positif Souche productrice de BLSE	13
8	Résultats positif de la production de carbapénémase	14

## Liste des tableaux

Numéro de tableau	Le titre des tableaux	Page
I	Sites de prélèvements au niveau des toilettes hospitalières et des toilettes publiques	06
II	List des antibiotiques testés	08
III	Répartition des souches isolées par sites de prélèvement	10
IV	Résultats du test CIM	14
V	Phénotypes probables de résistance aux carbapénèmes	15

## Tableaux en annexes

**Tableau I :** Aspect des colonies sur milieu CHROMagar (CHROMagar™ Orientation).

**Tableau II:** Résultat de la galerie API20E.

**Tableau III :** Profils de résistance des souches isolées des toilettes de l'hôpital aux  $\beta$ -lactamines.

**Tableau IV :** Profils de résistance des souches isolées des toilettes publiques aux  $\beta$ -lactamines.

**Tableau V :** Profils de résistance des souches isolées des toilettes de l'hôpital aux autres familles d'antibiotiques.

**Tableau VI :** Profils de résistance des souches isolées des toilettes publiques aux autres familles antibiotiques.

# *Introduction*

## Introduction

---

Dans le monde, près de 2,5 milliards de personnes n'ont pas accès à des installations sanitaires correctes. La défécation à l'air libre est pratiquée par plus d'un milliard d'entre elles. Cet état de fait, particulièrement observé dans les pays en développement, contribue à la propagation de micro-organismes pathogènes dans les habitats humains. En effet, l'élimination inadéquate des matières fécales humaines entraîne la contamination du sol, des eaux de surface et des eaux souterraines (**Francey et al., 1995**).

Le sujet des toilettes est assez important pour qu'une organisation se consacre à son étude et à sa promotion. En effet, la *World Toilets Organization* (WTO) organise notamment une Journée des toilettes chaque 19 novembre, afin de mettre en lumière l'importance du sujet. Chaque année, dans le monde, 700 000 enfants meurent de diarrhées causées par l'eau non potable et les mauvaises conditions d'hygiène. Ceci est dû essentiellement au fait que 40 % de la population mondiale n'ont pas accès à des installations sanitaires (**Nannote, 2016**).

Les mains abritent une flore résidente et peuvent être contaminées par une flore transitoire provenant de l'environnement ou des aliments (**ToddA et al., 2010**). La contamination fécale des mains est une voie majeure de transmission de pathogènes. Les concentrations de pathogènes peuvent atteindre  $10^4$  à  $10^{11}$  unités par gramme de matière fécale. L'utilisation du papier hygiénique ne protège pas efficacement contre une contamination des mains, en particulier en cas de diarrhée. Il a été démontré également que dans 63% des cas, la contamination des mains était observée à la sortie des toilettes, malgré l'utilisation de papier hygiénique (**ToddBet et al., 2010**).

La présence des microorganismes pathogènes d'origine fécale dans les ressources en eau constitue un important facteur de risque (maladies diarrhéiques) pour la santé des consommateurs (**Gotaas, 1959**). Ce sont les salmonelles, les shigelles et les campilobactères qui contaminent particulièrement les toilettes. Quatre zones à risque où l'on peut retrouver les germes pathogènes: les serviettes communes pour les mains, le robinet, les poignées de porte et les cuvettes et chasse d'eau. Les bactéries et les virus se propagent surtout via les mains lorsque l'on touche des surfaces contaminées et lorsque l'on tire la chasse d'eau. Egalement le fait d'actionner la chasse des toilettes domestiques et celles des hôpitaux sans en abaisser le couvercle peut aussi contaminer les surfaces environnantes (<http://www.mauxdeventre.org/centre-information/sujets-de-a-a-z/les-germes-dans-la-salle-de-toilette/>).

## Introduction

---

La transmission des maladies, causée essentiellement par l'assainissement et une hygiène médiocres, représente 17 % des décès attribuables au lieu de travail (Organisation internationale du Travail (**OIT, 2003**)).

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux qui conditionnent cette évolution (**Soussy, 2007**). Parmi les BMR, les bacilles à Gram négatif occupent une place importante et mettent en jeu plusieurs mécanismes pour contourner l'action des antibiotiques (**Boyer Chammard, 2013**).

Les défis majeurs de la résistance sont principalement rencontrés chez les espèces d'entérobactéries, de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* qui sont parmi les causes les plus importantes d'infections nosocomiales et, pour certaines entérobactéries, également une cause importante d'infections communautaires (**Rossolini et al., 2007**). Les entérobactéries productrices de carbapénémases représentent un véritable risque de santé publique. Outre l'inactivité de l'ensemble des molécules thérapeutiques de la classe des  $\beta$ -lactames, ces bactéries présentent fréquemment de multiples mécanismes de résistance qui peuvent conduire à une impasse thérapeutique (**Nordmann, 2010**).

La colonisation des réseaux d'eau par *P. aeruginosa* est liée à sa capacité à former des biofilms. Ces biofilms peuvent coloniser des tissus *in vivo* comme des poumons atteints de mucoviscidose (**Ryder et al., 2007**) ou des surfaces abiotiques, comme les canalisations d'eau (**Trautmann et al., 2005**). De nombreux problèmes sont associés au développement des biofilms en milieu médical et ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants). La résistance élevée des biofilms aux agents anti-bactériens pourrait également reposer sur la présence d'une sous-population de bactéries persistante, capables de résister à de fortes concentrations d'antibiotiques et de désinfectants (**Lewis, 2005**).

Le réservoir essentiel de ces bactéries est généralement l'hôpital où se trouvent réunies toutes les conditions favorables à leur émergence et leur dissémination. Les deux facteurs essentiels au développement des résistances bactériennes sont, d'une part, l'usage abusif des antibiotiques, favorisant la sélection des bactéries les plus résistantes, et d'autre part, une insuffisance des pratiques d'hygiène en particulier le lavage des mains (**Rolain et al., 2012**).

Les  $\beta$ -lactamines demeurent les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité des molécules (**Robin et al., 2012**).

Les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), découvertes initialement chez les souches de *K. pneumoniae* en Allemagne et en France, sont des enzymes de classe A d'origine plasmidiques qui présentent un fort potentiel de diffusion à travers le monde (**Robin et al., 2012; Ruppé 2010**). Ces dernières années, la prescription des carbapénèmes est devenue de plus en plus fréquente dans le cas d'infection à germe producteur de BLSE, mais également en traitement probabiliste en cas d'infections nosocomiales sévères (**Grall et al., 2011**). Cependant, comme pour toutes les  $\beta$ -lactamines mises sur le marché, des souches résistantes sont apparues. Cette résistance résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des  $\beta$ -lactamases. Les carbapénémases identifiées chez les bacilles à Gram négatif appartiennent aux 3 classes connues de  $\beta$ -lactamases (classes A, B et D de la classification de Ambler (**Nordmann et Carrer, 2010**)).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique en Algérie. En effet ces dix dernières années, nous avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif. La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries est dominée par la production de BLSE de type CTXM-3 et CTXM-15 (**Touati et al., 2006, Touati et al., 2010, Gharout et al., 2012**). Récemment des études on rapportées la résistance aux carbapénèmes chez des souches d'entérobactéries productrice de carbapénémases de type OXA-48 (**Agabou et al., 2014; Bouguenoun et al., 2016; Loucif et al., 2016**) et chez des souches de *A. baumannii* par production de carbapénémases de classe B (NDM-1) et de classe D (OXA-23) (**Bakour et al., 2012 ; Zenati et al., 2016**) ainsi que par modification de porines chez des souche de *P. aeruginosa* (**Bouguenoun et al., 2016**).

L'objectif de notre étude était d'évaluer le degré de contamination des toilettes utilisées par les résidents de l'hôpital et des toilettes à usage public (aéroport, gare routière, université,...) dans la région de Bejaia et de Jijel. Pour cela nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Prélèvements de surfaces aux niveaux des toilettes hospitalières et publiques ;

## Introduction

---

- Isolement et identification des bacilles à Gram négatif résistant aux carbapénèmes ;
- Détermination de la sensibilité des souches vis à vis des  $\beta$ -lactamines, quinolone, aminoside et colistine ;
- Faire le lien entre le taux de contamination des toilettes publiques comparé aux toilettes hospitalières ;
- Détermination des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines .

# *Matériel et Méthodes*

Ce travail a été réalisé pour la première fois au sien du laboratoire d'écologie microbienne et de l'équipe de résistance aux antibiotiques. Une des limité de ce travail est qui fait en même temps sont originalité est le fait qu'il y a peu de travaux à l'échelle national et international qui ont rapportées la contamination des toilettes publiques par des BGN multirésistants et la comparaison des taux de résistances de ces dernières à ceux rapportées des surfaces de toilettes hospitalières.

Cette étude a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'Université de A/Mira de Bejaia et au niveau du laboratoire de l'EPH de Jijel durant une période allant du 14/02/2017 au 17/05/2017.

### **I- Prélèvements**

Des prélèvements de surfaces (123 prélèvements) ont été effectué au niveau des toilettes du CHU de Bejaia et de l'EPH de Jijel ainsi qu'au niveau de toilettes publiques (Gare routière, Aéroport, sanitaire universitaire, Fast-food). Les sites de prélèvement sont représentés dans le tableau I.

## Matériel et méthodes

**Tableau I:** Sites de prélèvements au niveau des toilettes hospitalières et des toilettes publiques

Lieu	Date de prélèvements	Services /lieu	Sites des prélèvements	Nombre de prélèvements
Toilettes hospitalières	28/02/2017	UMC Chirurgie :H/F  Gynécologie Observation :H/F  B OP : Personnel  Laboratoire : Personnel  Pédiatrie MI: H/F Physiologie :H/F	Poignées de portes,  Lavabo,  Chasse d'eau,  Faience,  Cuvettes,  Robinets,  Interrupteur	49
Toilettes publiques	26/03/2017	Gare routière	Poignées de portes,	21
	26/03/2017	Aéroport	Lavabo,	21
	28/04/2017	Université	Chasse d'eau,	1
	28/04/2017	Gare routière	Faience, Cuvettes,	5
	28/04/2017	Fast-food	Robinets,	5
	30/04/2017	École primaire	Interrupteur	20
<b>Total</b>				123

Les 123 prélèvements ont été effectués par écouvillonnage. Un écouvillon stérile est préalablement humidifié dans un bouillon nutritif puis passé sur une zone définie de 25cm<sup>2</sup>. L'écouvillon est introduit dans le bouillon nutritif puis incubé à 37°C pendant 24h (French et al., 2004).

### II- Isolement et purification :

A partir des bouillons nutritifs présentant un trouble, on ensemence une gélose Mac Conkey additionnée de 0.5 µg/ml d'ertapénème pour sélectionner les bacilles à Gram

négatif résistants aux carbapénèmes et de 32µg/ml de vancomycine pour éliminer les bactéries à Gram positif. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h.

Après incubation, les boîtes sont examinées selon l'aspect de colonies et chaque type est ré-isolé sur gélose Mac Conkey pour purification et conservation.

### III- Identification

L'orientation préliminaire est basée sur les caractères culturels (taille, couleur, aspect des colonies) et la coloration de Gram. L'identification a été réalisée sur milieu Chromagar orientation (**tableau I**) en annexes et par galeries API20E (**tableau II**) en annexes.

Le milieu **Chromagar Orientation** est un milieu non sélectif qui sert à l'isolement et à l'identification directe. Un ensemencement des souches pures sur la gélose CHROMagar a été effectué. Après 24h d'incubation, l'identification a été faite selon l'apparence.

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

La sensibilité aux antibiotiques est testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton selon les recommandations définies par **EUCAST (2016)**. Les différents antibiotiques testés sont présentés dans le tableau II.

#### IV-1-Préparation de l'inoculum et ensemencement des boîtes

A partir d'une culture fraîche de 24h, une suspension bactérienne est préparée en dissociant 4 à 5 colonies dans 5 ml d'eau physiologique stérile correspondant à environ  $10^8$  UFC/ml.

Des boîtes de Mueller Hinton sont ensemencées par écouvillonnage. Des disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h (Tableau II).

#### VI-2-Lecture

Les différents diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec une règle. L'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R) a été faite selon les critères définis par **CA-SFM (2013) et EUCAST (2016)**.

**Tableau II : Liste des antibiotiques testés**

Nom d'antibiotique	abréviation	Charge (µg)	Diamètre critique		Marque	Famille/Groupe d'antibiotique
			S <sub>≥</sub>	R<		
Meropénème	MEM	10	22	19	Cypress diagnostic	Carbapénèmes
Imipénème	IPM	10	22	16	Cypress diagnostic	Carbapénèmes
Ertapénème	ETP	10	25	22	OXOID	Carbapénèmes
Tobramycine	TOB	10	17	14	Cypress diagnostic	Aminoside
Gentamicine	CN	10	16	16	Cypress diagnostic	Aminoside
Ceftazidime	CAZ	30	26	21	HIMEDIA	Céphalosporines
Ciprofloxacine	CIP	5	22	19	Cypress diagnostic	Fluoroquinolones
Amoxicillin /clavulanic acid	AMC	30	19	19	Bioanalyse	Aminopénicillines
Céfotaxime	CTX	30	26	23	Cypress diagnostic	Céphalosporins
Colistine sulphate	CT	50	15	15	OXOID	Polymixines
Aztréonam	ATM	30	26	21	Cypress diagnostic	Monobactames
Céfoxitine	FOX	30	19	15	Bioanalyse	Céphalosporines

## V- Caractérisation des phénotypes de résistance aux β-lactamines

### V-1- Recherche de la production de BLSE

#### V-1-1- Test de synergie

La production d'une BLSE est détectée par le test de la synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime (CAZ), céfotaxime (CTX) et aztréonam (ATM) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque combiné d'amoxicilline/acide clavulanique (AMC).

L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'AMC, C3G (CTX/ CAZ) et/ou aztréonam (ATM) indique la production d'une BLSE (Jarlier et al., 1988).

#### V-1-2- Recherche de production des carbapénémases par test CIM (carbapeneme Inactivation Methode)

Un nouveau test phénotypique, appelé la méthode d'inactivation de Carbapénèmes (CIM), a été développé pour détecter l'activité des carbapénémases chez les bacilles à

## Matériel et méthodes

Gram-négatives tel que les entérobactéries et les non-fermentaires (Zwaluw *et al.*, 2015).

Pour effectuer le test CIM (Figure 1):

1-Préparer des épindorfs contenant 500µl d'eau physiologique stérile,

2-Faire suspendre dans certains épindorfs une ose de *E. coli* ATCC sensible comme témoin négatif, d'une souche productrice de NDM-1 comme témoin positif ainsi que les souches à tester.

3-Introduire dans chaque épindorf, un disque de méropénèm (MEM) ou imipénem(IPM) de 10µg (Cypress Diagnostic) puis incubé au minimum 2 heures,

4-Après incubation, déposer les disques de MEM ou IPM correspondant au témoin (+), témoin (-) et aux souches à tester sur des boîtes de Pétris contenant de la gélose Mueller Hinton. Les boîtes sont ensemencées par la souche *E. coli* sensible puis incubé pendant 24h à 37°C.

5- La lecture est faite en mesurant les diamètres des zones d'inhibition et l'interprétation en sensible, résistante, ou intermédiaire est réalisée selon les recommandations de l'EUCAST 2016.

La figure ci-dessous montre les différentes étapes de la réalisation du test CIM.

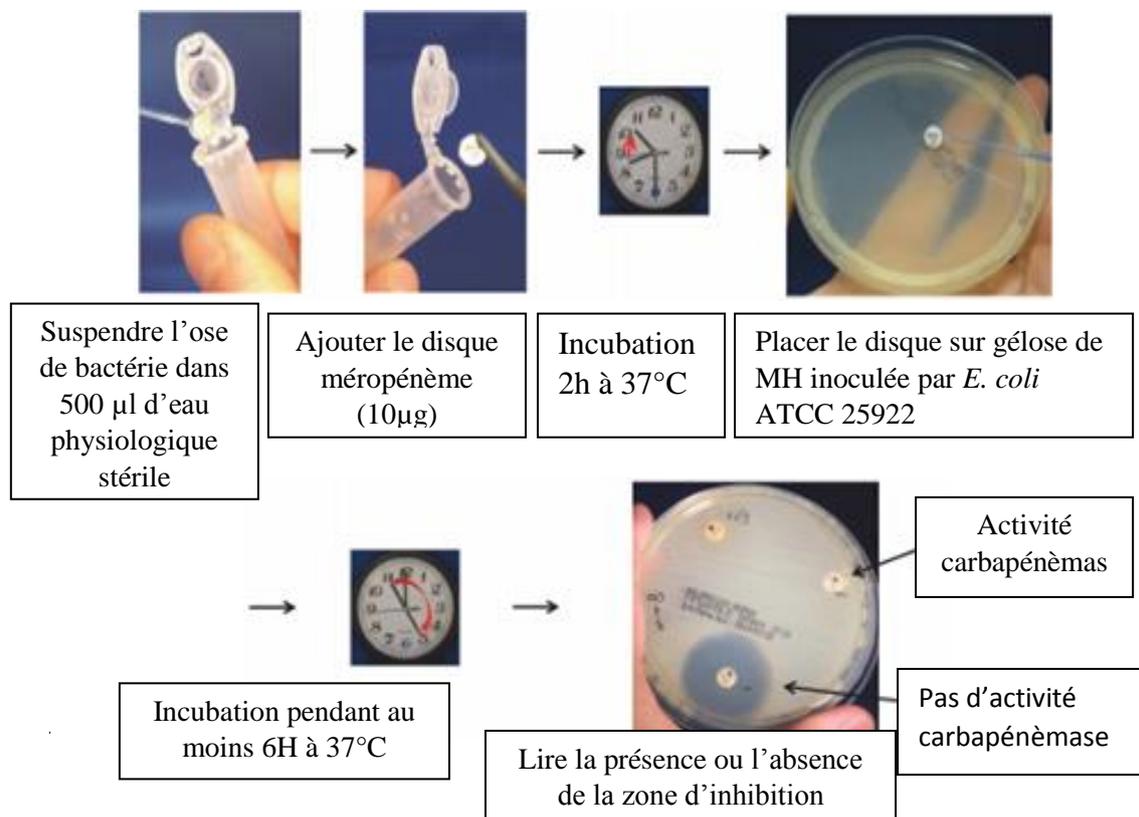


Figure 1 : Schéma du test CIM (Zwaluw *et al.*, 2015)

# *Résultats*

## Résultats

Durant cette étude, 123 prélèvements ont été effectués au niveau de toilettes hospitalière et publique dans la région de Bejaia et de Jijel, 49 souches ont été isolés. La Répartition des souches isolées par sites de prélèvement est représentée dans le tableau III.

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

Lieu	Sites de prélèvement	Nombre de souches	Total de souches
Toilettes hospitalières	Poignée de porte	5	22
	Cuvette	4	
	Faïence	2	
	Lavabo	3	
	Sol	6	
	Robinet	2	
Toilettes publiques	Sol	4	27
	Robinet	6	
	Cuvette	7	
	Mur	1	
	Interrupteur	2	
	Lavabo	4	
	Porte savon	1	
	Faïence	1	
	Poignée de porte	1	
<b>Total</b>			<b>49</b>

### I. Répartition des souches par groupe bactérien et par espèce :

Un total de 49 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées, 37(75.5%) souches appartiennent au groupe des non fermentaires dont 30 (61.22%) *A. baumannii*, 6(12.24%) *P. aeruginosa* et une souche (2.04%) de *Aeromonas hydrophila*. Par contre 12 souches (24.5%) seulement d'entérobactéries ont été identifiées dont 7(14.82%) souches *Enterobactersp.*, 3 (6,12%) souches *E.coli* et 2 (4,08%) souches de *K.pneumoniae*. La répartition des souches par espèce bactérien est représentée dans la figure 2.

## Résultats

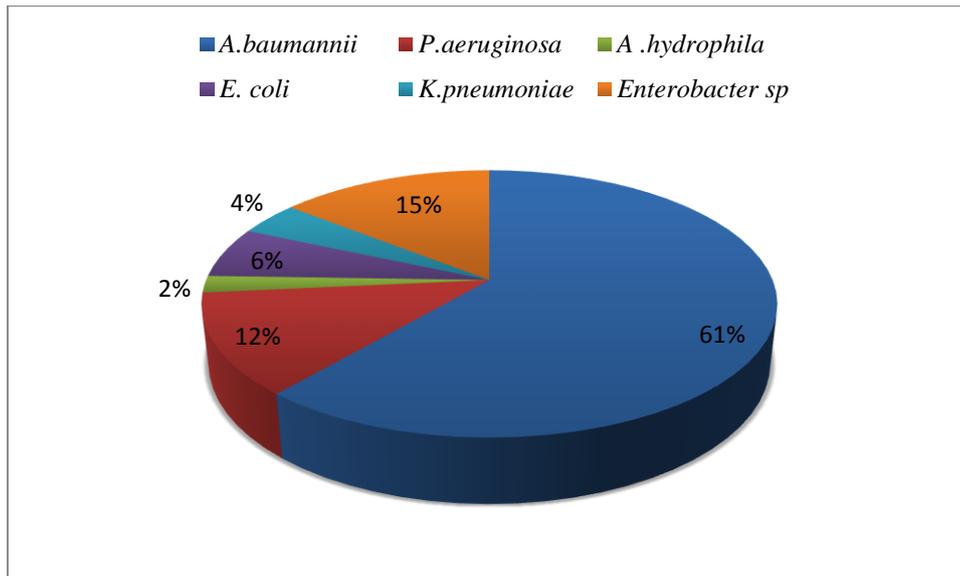


Figure2: Répartition des souches par espèce

### II. Répartition des souches par lieu de prélèvement

La figure 3 montre la répartition des souches selon le lieu de prélèvement. On note une prédominance des souches non fermentaires par rapport aux entérobactéries dans les toilettes hospitalières et des toilettes publiques. Toutefois les toilettes publiques montrent un taux de contamination plus élevé.

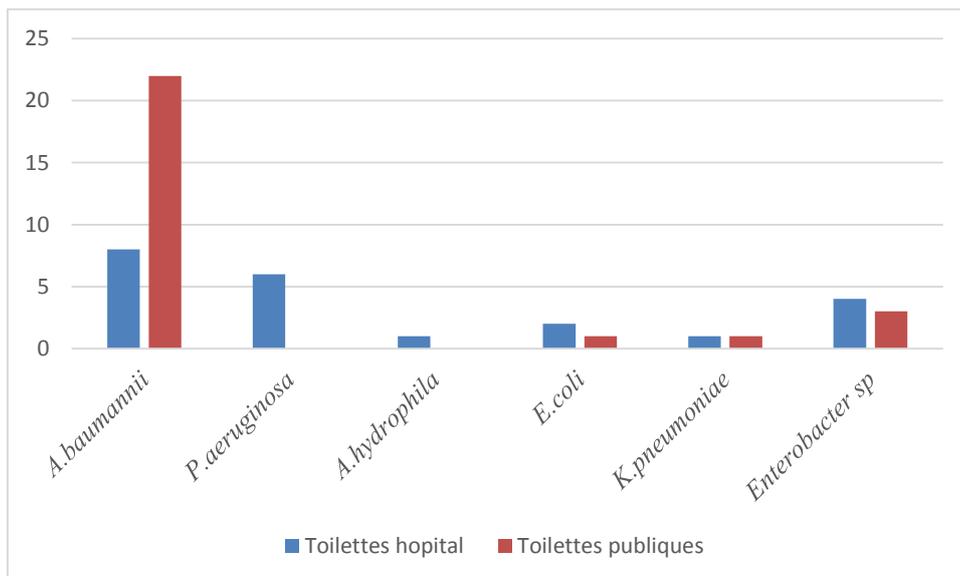


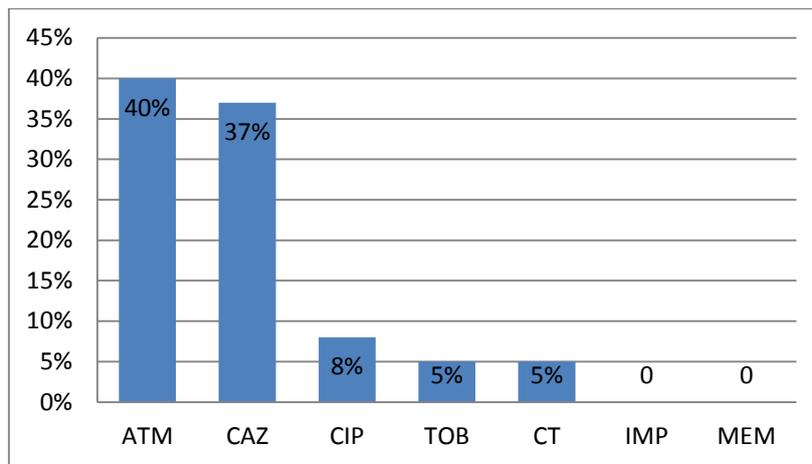
Figure3: Répartition des souches par lieu de prélèvement

### III-Etude de la Résistance des souches aux antibiotiques

Le résultat de l'antibiogramme des souches de bacilles à Gram négatif est répartie par sites d'isolements (**Annexe 2**).

#### III.1. Résistance des souches non fermentaires aux antibiotiques

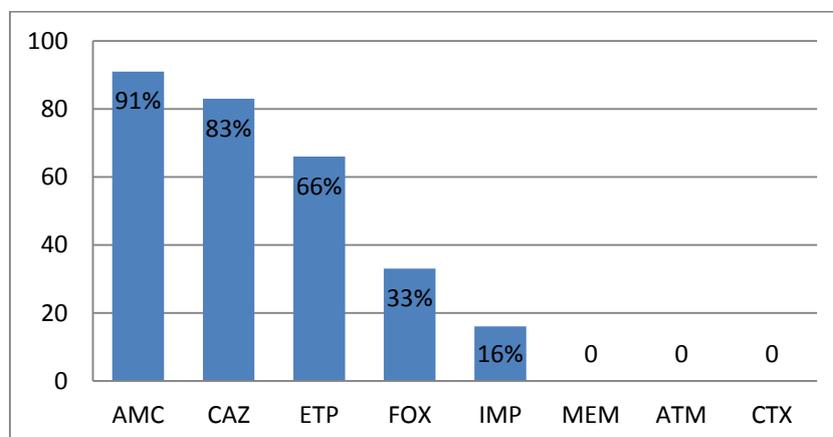
La figure 4 montre un taux de résistance de 40% vis-à-vis de l'aztréonam et de 37% vis-à-vis du céftazidime. Aucune souche n'est résistante aux carbapénèmes par contre 5% des souches présentent un diamètre réduit à la colistine.



**Figure 4:**Taux de résistance des BGN non fermentaire aux antibiotiques

#### III.2. Résistance des souches d'entérobactéries aux B-lactamines

D'après la figure5, presque la majorité des souches sont résistantes à la céftazidime et à l'ertapénème avec un taux de 83% et 66% respectivement. Aucune souche n'est résistante aux meropépème, céfotaxime et aztréonam.

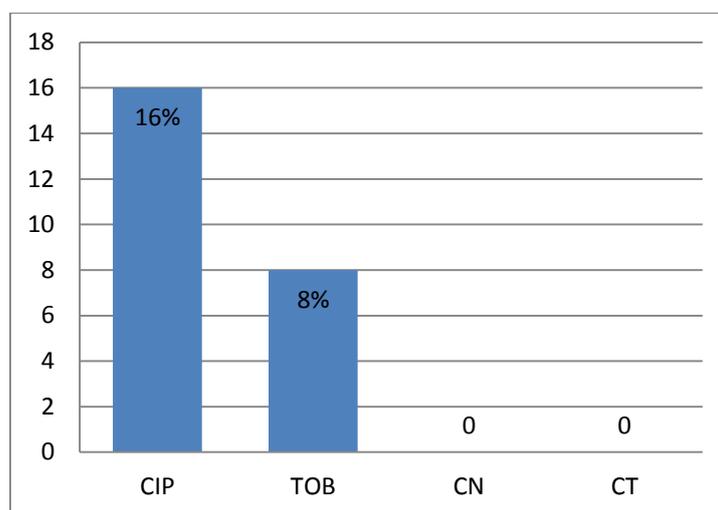


**Figure 5:**Taux de résistance des souches d'entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines

## Résultats

### III.3. Résistance des souches d'entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques

La figure 06 montre des taux résistance faible vis à vis de la ciprofloxacine (16%) et de la tobramycine (8%). Aucune souche n'est résistante à la colistine et à la gentamicyne.

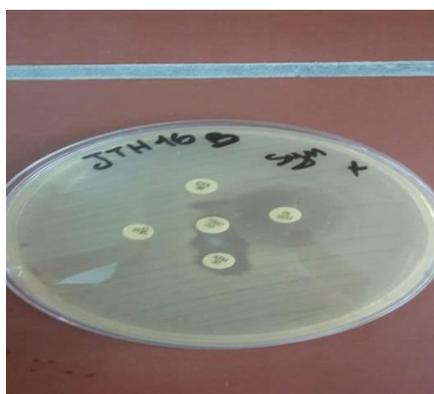


**Figure 6:** Taux de résistance des souches d'entérobactéries aux autres antibiotiques

## IV-Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

### IV.1. Recherche de la production de BLSE

Le DD-test sur gélose MH est négatif pour toutes les souches testées à l'exception une souche hospitalière d'*Aeromonas hydrophila* (JTH16B) qui est Productrice de BLSE. Le résultat est représenté dans la figure 7.



**figure 7 :** DD-test positif souche d'*A. hydrophila* productrice de BLSE

## Résultats

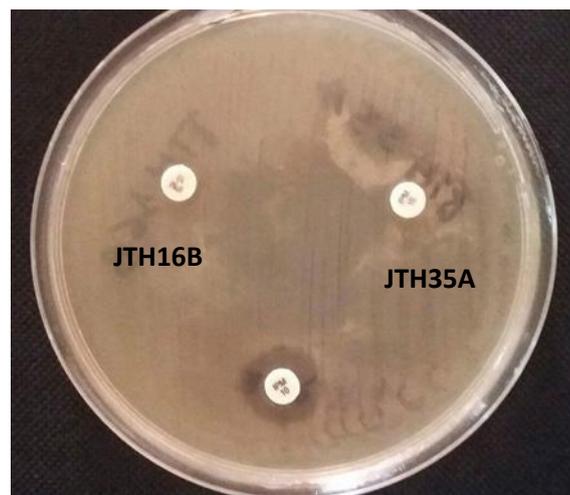
### IV.2. Recherche de la production de carbapénémase

La production de carbapénémase est mise en évidence par le test CIM pour les souches qui présentent une résistance aux carbapénèmes (IMP, ERT, MEM). Les résultats sont présentés dans le tableau IV et la figure 8. Toutes les souches testées sont productrices de carbapénémase.

**Tableau IV** : Résultats du test CIM

Code	Souche	Profil de résistance aux carbapénèmes	Diamètre (mm)	T+	T-	Production de carbapénémases
JTH35A	<i>K.pneumonia</i>	ETP, MEM	06/R	06/R	19/S	+
JTH16B	<i>A.hydrophila</i>	ETP	06/R	06/R	19/S	+
09	<i>E.coli</i>	ETP	12/R	06/R	19/S	+
BI01	<i>Enterobacter sp</i>	ETP	10/R	06/R	19/S	+
06/01	<i>Enterobacter sp</i>	IMP, ETP	06/R	06/R	19/S	+
13	<i>K.pneumoniae</i>	ETP	11/R	06/R	19/S	+
02	<i>Enterobacter sp</i>	ETP	7/R	06/R	19/S	+
16/01	<i>Enterobacter sp</i>	IMP, ETP	12/R	06/R	19/S	+
08	<i>E.Coli</i>	ETP	8/R	06/R	19/S	+

Un résultat positif du test CIM est pris à titre d'exemple (figure8)



**Figure08** : Résultats positif de la production de carbapénémase

## Résultats

### IV.3. Phénotypes de résistance aux B-lactamines

Le tableau V regroupe les phénotypes de résistance aux carbapénèmes associée ou non à une production de BLSE ou AmpC.

**Tableau V : Phénotypes probables de résistance aux carbapénèmes**

Espèces	Code	Profil de résistance	BLSE	CIM test	Phénotype probable
<i>K. pneumoniae</i>	JTH35A	ETP, CAZ, AMC, MEM	-	+	Carbapénèmase
<i>A. hydrophila</i>	JTH16B	ETP, MEM, ATM, CAZ, TOB, AMC	+	+	BLSE+carba
<i>E. coli</i>	09	ETP,CAZ,CIP,AMC	-	+	Carbapénèmase
<i>Enterobacter sp</i>	BI01	ETP,CAZ,FOX,AMC	-	+	AmpC+Carba
<i>Enterobactersp</i>	06/01	IMP,ETP,CAZ,FOX,AMC,TOB, CT	-	+	AmpC+Carba
<i>K. pneumoniae</i>	13	ETP,CAZ,AMC	-	+	Carbapénèmase
<i>Enterobactersp</i>	02	ETP,CAZ,CIP,AMC	-	+	Carbapénèmase
<i>Enterobactersp</i>	16/01	IMP,ETP,CAZ,FOX,AMC,CT	-	+	AmpC+ Carbapénèmase
<i>E.coli</i>	08	ETP,CAZ,AMC	-	+	Carbapénèmase

# *Discussions*

Durant ce travail, 49 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées à partir de différents prélèvements de surfaces au niveau des toilettes à l'hôpital et des toilettes publiques. 37 souches appartiennent au groupe des non fermentaires dont 30 *A.baumannii*, 6 *P. aeruginosa* et 1 souche d'*A. hydrophila*. 12 souches d'entérobactéries seulement ont été identifiées dont 7 *Enterobacter* sp, 3 *E.coli* et 2 *K.pneumoniae*.

*A. baumannii* est l'espèce la plus dominante avec un taux 61.22% en particulier dans les toilettes publiques. Les bacilles à Gram négatif sont des hôtes naturels de l'intestin et de l'environnement, et représentent un groupe hétérogène qui comprend les entérobactéries, les *Acinetobacter* sp. et les *Pseudomonas* sp. (Avril et al., 1992). Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont des bactéries ubiquitaires retrouvées dans l'environnement (sols, eaux...). Elles sont dites pathogènes opportunistes car, bien que pouvant être isolées d'infections communautaires, elles sont le plus souvent impliquées dans les infections nosocomiales (Berthelot et al., 2005).

Plusieurs travaux nationaux et internationaux ont rapportés la contamination par des souches d'*A.baumannii*, de *P.aeruginosa* et de *K.pneumoniae* des surfaces de l'environnement proches des patients telles que les poignées de porte, des sanitaires (robinet et chasse d'eau) ainsi que des dispositifs médicaux. Ces souches sont capables de survivre pendant des mois sur des surfaces inanimées et sont fréquemment isolées des patients atteints d'infection nosocomiale (Touati et al., 2010 ; Obeidat et al., 2014 ; Stoesser et al., Zenati et al., 2016). Ces résultats confirment la prédominance des souches d'*A. baumannii* sur les surfaces des toilettes hospitalières.

En milieu hospitalier, le contact des patients infectés et ou colonisés par des bactéries multirésistantes 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 BMR (Rutala et Weber, 2001). Cette constatation peut être généralisée pour inclure les surfaces des toilettes publiques qui peuvent être à l'origine de l'acquisition d'infections communautaires principalement les infections urinaires.

3/6 des souches de *P.aeruginosa* sont résistantes au céftazidime et toutes les souches sont sensibles aux autres  $\beta$ -lactamines. Chez les *P.aeruginosa* le système d'efflux

joue un rôle fondamental dans la résistance naturelle à de nombreux antibiotiques dont les  $\beta$ -lactamines (**livermore, 1995**) et les aminosides (**Masuda et al., 2000**).

*Pseudomonas aeruginosa* est un microorganisme très répandu et capable de persister dans l'environnement. Il présente la capacité d'utiliser différents composés organiques comme source d'énergie et la capacité de survivre pendant de longues périodes, dans un milieu humide. Le réservoir naturel de ce microorganisme est le sols humides, les végétaux, et surtout les eaux douces, usées et marines (**Ruiz et al., 2004**).

En milieu hospitalier, les surfaces en contact avec les mains sont souvent contaminées avec des agents pathogènes nosocomiaux qui présentent la capacité de survivre sur ces dernière durent une longue période. Un seul contact des mains avec une surface contaminée peut entraîner à un degré variable, le transfert de pathogènes (**Kramer et al., 2006**). La contamination des surfaces pourrait être réduite par le lavage des mains avant et après contact (**Oliveira et Damasceno, 2010**).

Les entérobactéries sont habituellement sensibles aux  $\beta$ -Lactamines, Colistine et Aminosite (Gentamicine, Tobramycine) (**Bonnet, 2006**). Durant ce travail, presque la totalité des souches d'entérobactéries est résistante à la céftazidime et l'amoxicilline/acide clavulanique. La majorité des souches est résistante à l'ertapénème, cependant toute les souches sont sensible à la gentamicine et à la colistine.

Durant ce travail on a isolée 9 souches productrices de carbapénèmases dont 2 *E.coli*, 2 *K.pneumonia*, 4 *Enterobactersp* et 1 souche d'*A.hydrophila*. Cette dernière produit également une BLSE.

L'isolement de souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmases reste rare en Algérie, la première carbapénèmase de type OXA-48 a été isolée chez des patient hospitalisés à l'hôpital militaire à Constantine en 2014 (**Agabou et al., 2014**). Par la suite, des souches d'entérobactéries isolées de surfaces hospitalière à hôpital de Guelma (**Bouguenoun et al., 2016**) et des cafards à partir du CHU de Batna ont été rapportées en 2016 (**Loucif et al., 2016**).

Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des  $\beta$ -lactamases. Le premier mécanisme est associé à la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE avec une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des porine. Le second est lié à la production d'une  $\beta$ -lactamase à forte activité hydrolitique vis-à-vis des carbapénèmes (**Nordmann et Carer, 2010**).

Une augmentation de la prévalence des souches résistantes au carbapenèmes a été vue dans le monde entier et le traitement des souches multirésistantes peut être difficile (**Drissi et al., 2010**). Les carbapénèmes ont été le médicament de choix contre cet agent pathogène, mais le nombre d'isolats résistants à ces molécules a augmenté considérablement (**Ben et al., 2011**).

La contamination des surfaces hospitalière par des entérobactéries productrice de  $\beta$ -lactamases de type TEM, SHV, CTX-M, CMY (**Abid et al., 2007; Touati et al., 2007; Touati et al., 2010; Sonna et al., 2013**) à été rapportée en Algérie.

Une souche hospitalière d'*A. hydrophila* a été isolée. Cette souche présente une résistance aux C3G (céftazidime et céfotaxime), carbapénème (ertapénème), à la colistine et à la tobramycine. Cette résistance est due probablement à une dérégulation des  $\beta$ -lactamases chromosomiques chez cette souches (**Fraisse et al., 2008**).

À l'école, la fréquentation des toilettes participe à la satisfaction des besoins fondamentaux de la pyramide de Maslow. un tiers des élèves ne vont pas aux toilettes, à cause de manque d'hygiène (**Nannote, 2016**) durant notre étude 8 souches d'*A. baumannii* ont été isolée d'une école primaire ce qui confirme le manque d'hygiène dans les toilettes scolaires.

# *Conclusion*

## Conclusion

---

Au cours de cette étude qui s'est déroulée au niveau du laboratoire A/Mira de Bejaia par l'équipe de résistance aux antibiotiques, les résultats que nous avons obtenus montrent que les toilettes hospitalière et publique sont largement contaminées par des bactéries multirésistantes et peuvent servir de réservoir potentiel de transmission des BMR.

Sur les 123 prélèvements effectués sur différentes surfaces sanitaires, 49 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées et identifiées. 37(75.5%) souches appartiennent au groupe des non fermentaires dont 30 *A. baumannii*, 6 *P. aeruginosa* et 1 souche de *A. hydrophila*. Seulement, 12 souches d'entérobactéries ont été identifiées dont 7 *Enterobacter sp*, 3 *E.coli* et 2 *K. pneumoniae*.

La sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques testés a montré que :

- Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont sensible aux carbapénèmes testés. Par contre une résistance modérée à la CAZ, ATM et colistine est remarqué (40%, 37% et 5% respectivement).
- Des taux de résistance élevés à ertapénèmes (66%) et à la céftazidime (83%) sont rapportés chez les souches d'entérobactéries.
- La recherche des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines a permis de détecter la production d'une BLSE+ carbapénémase chez une souche d'*A. hydrophila* et la production de carbapénémases chez 8 souches.

On note également une prédominance des souches non fermentaires par rapport aux souches d'entérobactéries dans les toilettes hospitalières et des toilettes publiques. Toute fois les toilettes publiques montrent un taux de contamination plus élevé.

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

Ces résultats nous incitent a mettre des recommandations à fin de limité la propagation de ces souches dans les différents compartiments de l'environnement à savoir :

- Le renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène et plus précisément l'hygiène des mains;

## Conclusion

---

- L'augmentation du nombre et de la qualité des toilettes hospitalières et publiques ainsi que leurs fréquences de nettoyage;
- Des solutions pour améliorer la fréquentation des toilettes scolaires doivent être travaillées selon trois axes : la conception des lieux, la mise en place d'une surveillance efficace et l'élaboration avec les élèves d'un plan.
- La sensibilisation de la population communautaire et hospitalière sur le risque que représentent ces BMR pour la santé publique et dans l'environnement.

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

- ✓ La détermination de l'évolution de la contamination des toilettes des hôpitaux et des toilettes publiques dans le temps.
- ✓ Comparaison entre la contamination des toilettes publique, hospitalière et domestique
- ✓ L'élargissement de l'étude sur un grand nombre de prélèvements et inclure les bactéries à Gram positif
- ✓ La détermination de l'efficacité des produits utilisés dans la désinfection des surfaces et des locaux .
- ✓ Détermination de la capacité de ces souches à persister dans l'environnement hostile et à former des biofilms.

# *Références bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

### A

**Abid. F, Boutefnouchet N, Dekhil M, Bouzerna N. (2006).** *Klebsiellapneumoniae* productrices de beta-lactamases a spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. Scientific Study and Researctch. 2:1582-540.

### B

**Boyer CHammard TAP.** *Lutte contre les bactéries multirésistantes en ville: état des lieux et moyens mis en oeuvre après une hospitalisation*, Thèse de doctorat en médecine, Faculté de médecine, Université Paris Diderot, France, 2013; 92p.

**Berthelot P, Grattard F, Mallaval FO, et al.** [Epidemiology of nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderiacepacia* and *Stenotrophomonasmaltophilia*]. *PatholBiol (Paris)* 2005;53: 341-8.

**Bonnet R.**  $\beta$ -Lactamines et entérobactérie .In Courvalin P, Leclercq R ,Bingen E. *Antibiogramme* .2006 ,Edition ESKA ;141-177.

**Ben RJ, Yang MC, Hsueh JC, Shiang JC, Chien ST (2011).** Molecularcharacterisation of multiple drug-resistant *Acinetobacterbaumanni* isolates in southern Taiwan. In. *J. Antimicrob. Agents*. 38 : 403-408.

### D

**DrissiI M, Poirel L, Mugnier PD, Ahmed ZB, Nordmann P (2010).** Carbapenemase-producing *Acinetobacterbaumanni*, Algeria. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 29 : 1457-1458

### F

**Francey R., PICKFORD J. et REED R.** 1995. *Guide de l'assainissement individuel*, Catalogue à la Source, Genève, OMS. 251 p.

## Références Bibliographiques

---

**French.G.L, Otter. J.A, Shannon.K.P,Adams. N.M.T ,Watling.D, Park .M.J.** Tackling contamination of the hospital environment by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) : a comparison between conventional terminal cleaning and hydrogen peroxide vapour decontamination. *Journal of Hospital Infection*(2004)57.31-37

### G

**Gotaas H. B.** (1959). *Compostage et assainissement*. OMS.(3) ; 117.

**Grall, N., Andremont, A., and Armand-Lefèvre, L.** 2011 résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse ? *Journal des Anti-infectieux*.

**Gharout-Sait, A., Touati, A., Benallaoua, S., Guillard, T., Brasme, L., Madoux, J., and de Champs, C.** (2012). CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 6 : 5306-5313.

### J

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

### K

**Kramer A, Schwebke I et Kampf G.** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces ? A systematic review. *BMC Infectious Diseases* (2006); 6 (130): 8 p.

### L

**Lewis K** (2005) Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Mosc)*, 70, 267-274.

**Loucif, L., Gasemi, D. J., Cherak, Z., Chamlal, N., Grainat, N., Rolain, J.** (2016). First Report of German Cockroaches (*Blattella germanica*) as Reservoirs of CTX-M-15 Extended-

## Références Bibliographiques

---

Spectrum-Lactamase- and OXA-48 Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Batna University Hospital, Algeria, 6377-6380

**Livermore DM.** beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8: 557-84.

### M

**Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, et al.** Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 3322-7.

### N

**Nordmann, P. and A. Carrer (2010).** "Les carbapénèmases des entérobactéries." *Archives de pédiatrie* 17: S154-S162 10 (6): 644-8.

**Nonnotte A.C.** 2016, Les toilettes scolaires, Infirmier. Elsevier Masson, 11.

### O

**OIT(2003)** <http://www.un.org/fr/events/toiletday/> date de consultation 18 avril 2017.

**Obeidat N., Jawdat F., Al-Bakri A., Shehabi A. ( 2014).** Major biologic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environmental and patients' respiratory tract sources. *American Journal of Infection Control*. 42:401-4.

**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.

### P

**Rutala WA ,Weber DJ.** Understanding and preventing transmission of healthcare associated pathogens due to the contaminated hospital environment. *Infect Control and Hosp Epidemiol* 2013;34:450–452.

## Références Bibliographiques

---

### R

**Rossolini, G. M., Mantengoli, E., Docquier, J. D., Musmanno, R. A., and Coratza, G.** 2007

Epidemiology of infections caused by multiresistant gram-negatives: ESBLs, MBLs, panresistant strains. *New Microbiol.* 30, 332-339.

**Ryder C., Byrd M., Wozniak D.J.** Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Curr Opin Microbiol* (2007). 10 (6): 644-8

**Rolain, J. M., Canton, R., and Cornaglia, G.** 2012 Emergence of antibiotic resistance: need for a new paradigm. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 615-616.

**Robin, F., Gibold, L., and Bonnet, R.** 2012 Résistances naturelles et acquises aux bêta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires* 445, 47-58.

**Ruppé, E.** 2010 Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques* 12, 3-16.

**Ruiz L, Dominguez MA, Ruiz N, Vinas M.** Relationship between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital setting. *Arch Med Res* 2004;35: 251-7.

### S

**Soussy C.-J.** 2007. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. 21-46.

### T

**Trautmann M., Lepper P.M., Haller M.** Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am J Infect Control* (2005) 33 (5 Suppl 1): S41.

**Touati, A., Zenati, K., Brasme, L., Benallaoua, S., and de Champs, C.** (2010). Extended-spectrum beta-lactamase characterisation and heavy metal resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated from hospital environmental surfaces. *J. Hosp.*

## Références Bibliographiques

---

Infect. **75** : 78-79.

**Touati A., Benallaoua S., Djoudi F., Madoux J., Brasme L. et De Champs C. (2007).** Characterisation of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* and Escherichia coli strains isolated from hospital environments in Algeria. Microbial Drug Resistance. **13**(2): 85-89.

**Todd E. C. D., B. S. Michaels, J. D. Grieg, D. Smith, C. A. Bartelson,** Outbreaks where foodworkers have been implicated in the spread of foodborne disease; part 8 – Gloves as barrier to prevent contamination of food by workers, J. Food Prot. **73** (9), 2010, 1762-1773.

**Todd E.C.D., Grieg J. D., Bartelson C. A., Michaels B. S.** 2010. Outbreaks where foodworkers have been implicated in the spread of foodborne disease; part 7 – Barriers to reduce contamination of food by workers. J. Food Prot. **73** (8). 1552-1565.

## Z

**Zwaluw, Angela de Haan, Gerlinde N. Pluister, Hester J. Bootsma, Albert J. de Neeling, Leo M. Schouls** Published: March 23, 2015.

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

## Annexes

---

**Tableau I** : Aspect des colonies sur milieu CHROMagar (CHROMagar™ Orientation).

Espèce	Couleur de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies roses à pourpres
KES-C ( <i>Klebseilla, Entérobacter, Serratia, Citrobacter</i> )	Colonies bleues vert à bleues avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Pprovidencia</i>	Colonies pales à beiges cernées d'une auréole ambre à marron
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaques
Entérocoque	Petites colonies bleues turquoise

## Annexes

**Tableau II:** Résultat de la galerie API20E

Espèce	OMP G	AD H	LD C	OD C	CI T	H2 S	UR E	TD A	IN D	V P	GE L	GL U	MA N	IN O	SO R	RH A	SAC	ME L	AM Y	AR A	OX
<i>pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E.coli</i>	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+/-	+	-	+	-
<i>Aeromonas hydrophila G2</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+/ -	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Acinetobacter baumani</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-

### *Annexe 1 : Composition des milieux de culture utilisés*

#### *Gélose Mac Conkey (pH 7.4)*

- Peptone.....20
- Lactose.....10
- Sels biliaires.....0.072
- Chlorure de sodium..... 05
- Agar.....12

#### *Gélose Muller Hinton (pH 7.4)*

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

#### *Bouillon nutritif (pH=7.7)*

- Macération de viande.....01
- Peptone trypsine.....15
- NaCl.....05

#### *CHROMagar Orientation*

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

## Annexes

**Tableau III: Profils de résistance des souches isolées des toilettes de l'hôpital aux  $\beta$ -lactamines.**

Code	Espèce	Site	IMP	ETP	MEM	CAZ	ATM	FOX	CTX	AMC	Origine de prélèvement
JTH29A	<i>P.aeruginosa</i>	Sol de toilette MH	S		S	S	S				Toilettes Hôpital
JTH14A	<i>P.aeruginosa</i>	Cuvetteobs F	S		S	S	S				
JTH14B	<i>P.aeruginosa</i>	Cuvette obs F	S		S	S	S				
JTH35A	<i>K.pneumonia</i>	Cuvette phtisio H	S	R	R	I	S	S	S	R	
JTH16B	<i>A.hydrophila</i>	Faïence obs H	S	R	S	R	R	S	R	R	
JTH16A	<i>A.baumannii</i>	Faïence obs H	S		S	R	R				
JTH5B	<i>A.baumannii</i>	Lavabo UMC	S		S	S	I				
JTH17	<i>A.baumannii</i>	PP pédiaterie	S		S	S	I				
JTH20	<i>A.baumannii</i>	Cuvette gyn	S		S	S	R				
JTH39	<i>A.baumannii</i>	Lavabo phtisio	S		S	S	S				
BI01	<i>Enterobactersp</i>	PP CHU bejaia	S	R		R	S	R		R	
06/01	<i>Enterobactersp</i>	Sol CHU bejaia	R	R		R	S	R		R	
02	<i>Enterobactersp</i>	Lavabo CHU bejaia	S	I		R	S	S	S	R	
Tube BIBM	<i>Enterobactersp</i>	PPCHU	S	S		R	S	S	S	R	
BMTM	<i>A.baumannii</i>	Sol CHU bejaia	S			R	S				
01	<i>P.aeruginosa</i>	Sol CHU bejaia	S			R	S				
07	<i>P.aeruginosa</i>	Robinet CHU bejaia	S			R	I				
06/02	<i>P.aeruginosa</i>	Sol CHU bejaia	S			R	I				
01	<i>A.baumannii</i>	PPCHU bejaia	S			R	R				
04	<i>E.coli</i>	Sol CHU bejaia	S	S		R	S			R	
05	<i>A.baumani</i>	Robinet CHU bejaia	S			R	R				
08	<i>E.coli</i>	PP CHU bejaia	S	R		R				R	

## Annexes

**Tableau IV : Profils de résistance des souches isolées des toilettes publiques aux  $\beta$ -lactamines.**

Code	Espèce	Site	IMP	ETP	MEM	CAZ	ATM	FOX	CTX	AMC	Origine de prélèvement
JTA1	<i>A. baumannii</i>	Sol A	S		S	S	R				Toilettes publiques
JTG29	<i>A. baumannii</i>	Lavabo GR	S		S	S	S				
JTG25B	<i>A. baumannii</i>	Cuvette GR	S		S	S	S				
JTG25A	<i>A. baumannii</i>	Cuvette GR	S		S	S	S				
JTG30	<i>A. baumannii</i>	Sol GR	S		S	S					
JTG26	<i>A. baumannii</i>	Lavabo GR	S		S	S					
JTG20B	<i>A. baumannii</i>	Sol GR	S		S	S					
JTA41	<i>A. baumannii</i>	Cuvette GR	S		S	S					
JTG33B	<i>A. baumannii</i>	Lavabo GR	S		S	S					
TJA4B	<i>A. baumannii</i>	Robinet A	S		S	S					
09	<i>E.coli</i>	PP GR Bejaia	S	I		R	S	S	S	R	
B11	<i>Enterobactersp</i>	Robinet GR bejaia	S	S		R	S	R	S	R	
13	<i>Kpneumonia</i>	Mur GR bejaia	S	I		R	S	S	S	R	
16/01	<i>Enterobactersp</i>	Robinet fast-food	R	R		R	S	R	S	R	
16/02	<i>A.baumannii</i>	Robinet fast-food	S			R	S				
15E	<i>A.baumannii</i>	Sol	S		S	S	S				
04/02	<i>Enterobactersp</i>	Lavabo	S	S	S	S	S	S	S	S	
18E	<i>A.baumannii</i>	Cuvette	S		S	S	S				
19E	<i>A. baumannii</i>	Cuvette	S		S	S	R				
13E	<i>A. baumannii</i>	Faillance	S		S	S	S				
08/02E	<i>A. baumannii</i>	Robinet	S		S	S	S				
16E	<i>A. baumannii</i>	Porte savon	S		S	S	S				
01E	<i>A. baumannii</i>	Cuvette	S		S	S	S				
11	<i>A. baumannii</i>	Robinet GR	S			R	R				
10/02	<i>A. baumannii</i>	Interepteur GR	S			R	R				
10	<i>A. baumannii</i>	Interpteur2 GR	S			R	R				
12	<i>A. baumannii</i>	Cuvette GR	S			R	R				

## Annexes

**Tableau V: Profils de résistance des souches isolées des toilettes de l'hôpital aux autres familles d'antibiotiques**

Code	Espèce	Site	CIP	CN	TOB	CT	Origine de prélèvement
JTH29A	<i>P.aeruginosa</i>	Sol de toilette MH	S		S	S	Toilettes Hôpital
JTH14A	<i>P.aeruginosa</i>	Cuvette obs F	I		S	S	
JTH14B	<i>P.aeruginosa</i>	Cuvette obs F	S		S	S	
JTH35A	<i>K.pneumonia</i>	Cuvette phtisio H	S	S	S	S	
JTH16B	<i>A.hydrophila</i>	Faïence obs H	S	S	R	R	
JTH16A	<i>A.baumannii</i>	Faïence obs H	I		R	R	
JTH5B	<i>A.baumannii</i>	Lavabo UMC	S		S	S	
JTH17	<i>A.baumannii</i>	PP pédiaterie	S		S	S	
JTH20	<i>A.baumannii</i>	Cuvette gyn	S		S	S	
JTH39	<i>A.baumannii</i>	Lavabo phtisio	S		S	S	
BI01	Enterobactersp	PP CHU bejaia	S	S	S	S	
06/01	Enterobactersp	Sol CHU bejaia	S	S	I	S	
02	Enterobactersp	Lavabo CHU bejaia	R	S	S	S	
Tube BIBM	Enterobactersp	PPCHU	S	S	S	S	
BMTM	<i>A.baumannii</i>	Sol CHU bejaia	S		S	S	
01	<i>P.aeruginosa</i>	Sol CHU bejaia	S		S	S	
07	<i>P.aeruginosa</i>	Robinet CHU bejaia	S		S	S	
06/02	<i>P.aeruginosa</i>	Sol CHU bejaia	R		S		
01	<i>A.baumannii</i>	PPCHU bejaia	S		S	S	
04	<i>E.coli</i>	Sol CHU bejaia	S		S	S	
05	<i>A.baumani</i>	Robinet CHU bejaia	S		S	S	
08	<i>E.coli</i>	PP CHU bejaia	S		S	S	

## Annexes

**Tableau VI : Profils de résistance des souches isolées des toilettes publiques aux autres familles antibiotiques.**

Code	Espèce	Site	CIP	CN	TOB	CT	Origine de prélèvement
JTA1	A.baumannii	Sol A	S		S	S	Toilettes publiques
JTG29	A. baumannii	Lavabo GR	S		S	S	
JTG25B	A. baumannii	Cuvette GR	S		S	S	
JTG25A	A. baumannii	Cuvette GR	S		S	S	
JTG30	A. baumannii	Sol GR	S		S		
JTG26	A. baumannii	Lavabo GR	S		S		
JTG20B	A. baumannii	Sol GR	S		S		
JTA41	A. baumannii	Cuvette GR	S		S		
JTG33B	A. baumannii	Lavabo GR	S		S		
TJA4B	A. baumannii	Robinet A	S		S		
09	E.coli	PP GR Bejaia	R	S	S	S	
B11	Enterobactersp	Robinet GR bejaia	S	S	S	S	
13	Kpneumonia	Mur GR bejaia	S	S	S	S	
16/01	Enterobactersp	Robinet fast-food	S	S	S	S	
16/02	A.baumannii	Robinet fast-food	S				
15E	A.baumannii	Sol	S		S	S	
04/02	Enterobactersp	Lavabo	S	S	S	S	
18E	A.baumannii	Cuvette	S		S	S	
19E	A. baumannii	Cuvette	S		S	S	
13E	A. baumannii	Faillance	S		S	S	
08/02E	A. baumannii	Robinet	S		S	S	
16E	A. baumannii	Porte savon	S		S	S	
01E	A. baumannii	Cuvette	S		S	S	
11	A. baumannii	Robinet GR	S		S	S	
10/02	A. baumannii	Interpteur GR	S		S	S	
10	A. baumannii	Interpteur2 GR	S		S	S	
12	A. baumannii	Cuvette GR	S		S	S	

## **Résumé :**

**Objectif :** Caractérisation de la résistance aux antibiotiques des souches de bacilles à Gram négatif isolées des toilettes des hôpitaux et des toilettes publiques.

**Méthode :** 123 prélèvements ont été effectués à partir de différentes surfaces au niveau des toilettes des hôpitaux et des toilettes publiques. L'isolement a été effectué sur une gélose Mac Conkey additionnée de 0.5 µg/ml d'ertapénème. Les souches isolées ont fait l'objet d'une identification sur milieu chromagar et par galerie API20E et d'une caractérisation de la sensibilité vis-à-vis des β-lactamines et d'autres familles d'antibiotiques. Les phénotypes de résistance aux β-lactamines ont été étudiés.

**Résultats :** Au total 49 souches de bacilles à Gram négatif ont été identifiées dont 30 *A. baumannii*, 06 souches de *P. aeruginosa*, 01 d'*A. hydrophila* et 12 souches d'entérobactéries. L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé que presque la totalité des souches d'entérobactéries sont résistantes à la céftazidime. Une seule souche d'*A. hydrophila* est productrice de BLSE et de carbapénémase et les 8 autres souches sont productrices de carbapénémase uniquement.

**Mots clés :** Toilettes, hôpitaux, Publiques, BMR, carbapénémase, BGN

## **Abstract :**

**The aim of this study :** was to characterize resistant mechanisms of antibiotics determinant in Gram negative bacilli isolated from the toilets of the hospitals and public toilets.

**Methodology :** 120 samples were taken from the toilets of hospitals and public toilets, the sample was plated in Mac ConKey agar supplemented with ertapenem (0.5 µg/ml) and. The identification by API20 and the characterization of the sensitivity to β-lactam and other antibiotics and phenotype of resistance to β-lactam were studied.

**Results :** A total 49 strains of Gram negative bacilli were identified in which 30 strains are *A. baumannii*, 06 strains are *P. aeruginosa*, 01 strain is *Aeromonas hydrophila* and 12 strains are enterobacteria. The study of antibiotic susceptibility showed that almost all strains of enterobacteria are resistant to ceftazidim, one strain was found to produce EBLs+carbapenemase and 08 other strains are carbapenemase's producers.

**Keywords :** Toilet, Hospitals, Publics, MDR, carbapenemase, GNB