

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Science de la Nature et de la Vie
Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



Réf :

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

MASTER

Thème

Etude de la résistance aux antibiotiques des bacilles
à Gram négatif isolés d'Oued Soummam : Bejaïa

Présenté par :

ABZAR Nesrine & SLIMANI Samira

Soutenu le : **11/06/2015 a 11H**

Devant le jury composé de :

| | | |
|------------------------|-----|-----------|
| Mr. DJOUDI F. | MCB | Président |
| Mme. TAFUKT R. | MAB | Encadreur |
| Mme. BELHADI K. | MAA | Examineur |

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

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

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à :

Notre promotrice Mme Tafoukt Rima, qui nous a permis de bénéficier de la qualité de son encadrement, les conseils qu'elle nous à prodigué, la patience, la confiance qu'elle nous a témoigné.

On remercie vivement, Mr F. Djoudi et Mme K. Belhadi qui ont accepté et de valoriser ce travail.

Nous souhaitons adresser nos vifs remerciements au Chef du département de Microbiologie Mr A. Touati pour ses précieuses orientations.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant toutes nos années d'études.

Toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin de quelque façons que ce soit, a la concrétisation de ce travail.



Je dédie ce modeste travail

*A mon père en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver
et t'accorder santé et prospérité ;*

*A ma mère : qu'elle trouve ici l'hommage de ma gratitude, si grande qu'elle puisse être, ne
sera a la hauteur de ses sacrifices et ses prière pour moi ;*

A mes sœurs Ouardia et Lina à qui je souhaite beaucoup de réussite et de bonheur ;

A toute la famille ABZAR et MIMOUCHE

A mon chère binôme Samira en témoignage de l'amitié qui nous unie ;

*A tous mes amis : Djidja, Syla, Fairouz, Walid, Khaled qui me sont chères, qu'ils trouvent
ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères ;*

A toute la promotion MSBV

Que Dieu le tous puissant vous préserve tous et vous procure sagesse et sérénité.

Nesrine



Je dédie cet humble travail

A mes très chers parents et ma grande mère paternelle. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu vous procure bonne santé, bonheur et longue vie.

Je le dédie, également, à mes chers frères Idir et Mahieddine, que le bon dieu vous protège. Sans oublier mon frère Kamel malgré le vide immense que tu nous as laissé, tu resteras à tout jamais présent dans nos cœurs et dans nos mémoires, que dieu t'accueille dans son vaste paradis.

A ma très chère cousine et sœur Naima et à toute la famille SLIMANI et AICHE.

A ma chère sœur et binôme Nesrine.

A tous ceux qui ont, un jour ou l'autre, m'ont offert leurs amitiés et des moments inoubliables, je n'oublie jamais un visage, un sourire, une parole.

Merci à tous pour tout votre amour, votre soutien et vos prières.

Samira

Sommaire

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Introduction | 1 |
| Matériel et Méthodes | |
| I. Présentation de la zone d'étude | 5 |
| I.1 Situation géographique | 5 |
| I.2 Principaux affluents | 6 |
| II. Échantillonnage..... | 7 |
| II.1 Choix des points de prélèvements..... | 7 |
| II.2 Prélèvement..... | 8 |
| II.3 Conditionnement et transport des échantillons | 8 |
| III. Enrichissement..... | 9 |
| IV. Isolement et purification | 9 |
| V. Identification des souches | 9 |
| VI. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques..... | 10 |
| VII. Déduction des phénotypes de résistance | 12 |
| VII.1 Recherche des β -lactamases à spectre étendu (BLSE)..... | 12 |
| VII.2 Recherche des céphalosporinases..... | 12 |
| VII.3 Recherche des carbapénèmases..... | 12 |
| Résultats | |
| I. Isolement des souches..... | 14 |
| II. Identification des souches | 14 |
| II.1 Répartition des souches par familles..... | 15 |

| | | |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| II.2 | Répartition des souches isolées | 16 |
| III. | Sensibilité des souches à Gram négatif isolées aux antibiotiques | 17 |
| III.1 | Sensibilité des souches à Gram négatif aux β -lactamines..... | 17 |
| III.2 | Sensibilité des souches à Gram négatif aux autres familles d'antibiotique..... | 18 |
| IV. | Phénotypes de résistance probables | 19 |
| IV.1 | β -lactamases à spectre étendu (BLSE) | 19 |
| IV.2 | Céphalosporinases | 21 |
| IV.3 | Carbapénèmases..... | 21 |
| | Discussion des résultats..... | 23 |
| | Conclusion..... | 28 |

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AK : Amikacine.

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique.

ATM : Aztréonam.

BGN : Bacille à Gram Négatif.

BLSE : β -lactamase spectre étendu.

CAZ : Céfotaxime.

CIP : Ciprofloxacine.

CN : Gentamycine.

C.S : milieu Citrate de Simmons.

CTX : Céfotaxime

CTX-M : Céfotaximase Munich.

CX : Céfoxitine.

D-D test : Double disque test.

ETP : Ertapénème.

FEP : Céfepime.

I : Intermédiaire.

IMP : Imipinème.

Man : Mannitol.

MH : Gélose de Muller Hinton.

NR: Réactif de Griess

NDM: New Delhi Métalo β -Lactamases.

OXA : Oxacillines.

R : Résistant.

RM : Rouge de méthyle.

S : Sensible.

TE : Tétracycline.

VP : Réactif de Voges-Proskauer.

U.F.C : Unités formant colonies.

Listes des figures

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure n° 01 : Position géographique d'Oued Soummam | 5 |
| Figure n°02 : Positionnement des 16 points de prélèvement tout au long d'Oued Soummam..... | 8 |
| Figure n° 03 : Répartition des bacilles à Gram négatif..... | 14 |
| Figure n° 04 : Répartition des différents bacilles à Gram négatif isolées à partir d'Oued Soummam..... | 16 |
| Figure n°05 : Taux de résistance aux β -lactamines des souches Gram négatif isolées à partir du 1 ^{ier} et du 2 ^{ème} prélèvement | 17 |
| Figure n°06 : Taux de résistance des bacilles à Gram négatif isolées à partir du 1 ^{ier} et du 2 ^{ème} prélèvement aux autres familles d'antibiotiques..... | 18 |
| Figure n° 07 : Répartition des BLSE par espèces | 20 |
| Figure n°08 : Photos de souches produisant ou pas une BLSE | 20 |
| Figure n°09 : Répartition des BLSE par espèces isolées en 1 ^{ier} et 2 ^{ème} prélèvement | 21 |
| Figure n°10 : Photo d'une souche productrice d'une AmpC et une souche productrice d'une AmpC + BLSE | 22 |
| Figure n° 11 : Répartition des souches productrices de carbapénèmases par espèces..... | 23 |
| Figure n° 12 : Image représentant les résultats du Carba NP-test modifié..... | 23 |

Liste des tableaux

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau I : Débit moyen annuel des affluents de l'oued Soummam | 6 |
| Tableau II : Sites de prélèvements | 7 |
| Tableau III : Liste des antibiotiques testés..... | 11 |
| Tableau IV : Interprétation des résultats du Carba NP-test modifié..... | 13 |
| Tableau V : Répartition des souches selon la date des prélèvements | 14 |
| Tableau VI : Les différentes souches à Gram négatif isolées | 15 |
| Tableau VII : Les BLSE produites ainsi que le nombre de souches productrices | 19 |
| Tableau VIII : Les Carbapénèmases produites ainsi que le nombre de souches productrices..... | 22 |

Annexe I

Tableau d'identification des souches par les tests biochimique.

Annexe II

Charge et diamètres des antibiotiques testés.

Annexe III

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 1^{ier} prélèvement aux β -lactamines.

Annexe IV

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 2^{ème} prélèvement aux β -lactamines.

Annexe V

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 1^{ier} prélèvement aux antibiotiques autre que les β -lactamines.

Annexe VI

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 2^{ème} prélèvement aux antibiotiques autre que les β -lactamines.

Introduction

Les antibiotiques ont constitué une des innovations thérapeutiques les plus importantes du XX^e siècle, puisque leur utilisation a permis de guérir des maladies infectieuses bactériennes qui constituaient jusqu'alors les causes principales de mortalité (**Guillemot, 2005**).

Les antibiotiques sont des molécules à activité antibactérienne. Ils sont soit d'origine biologique (β -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides), semi-synthétiques ou synthétiques (sulfamides, quinolones) (**Belouni et al., 2009**). Ils sont classés comme bactéricides ou bactériostatiques (**Ternent et Dyson, 2015**).

Au cours des cinquante dernières années, l'utilisation des antibiotiques a constamment augmenté. En plus de la large utilisation pour le traitement des maladies humaines, les antibiotiques sont communément utilisés dans la médecine vétérinaire. Ils ont également été utilisés pendant des années à des concentrations sub-thérapeutiques comme promoteurs de croissance dans l'élevage (**Servais et al., 2009**) ou dans les piscicultures et dans les traitements des plantes (**Martinez, 2009**). Cependant l'utilisation abusive des antimicrobiens a conduit à l'émergence et la dissémination des souches résistantes au sein des populations bactériennes. (**Corvaglia, 2006 ; Martin et al., 2007 ; Servais et Passerat, 2009**).

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

Certaines espèces bactériennes ont développé cette « résistance naturelle » dans leur propre milieu il y a de cela des millions d'années, soit parce qu'elles étaient elles-mêmes productrices de molécules d'antibiotiques et devaient donc les tolérer, soit pour contrer l'effet d'antibiotiques produits par d'autres organismes présents dans leur entourage. La résistance aux antibiotiques est donc une conséquence de la compétition entre les micro-organismes pour occuper une même niche écologique (**Courvalin, 2012 ; Gateau, 2012**), elle existe naturellement chez les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne et qui se transmet à la descendance tel que, *Klebsiella pneumoniae* qui résiste naturellement aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines (**Maurin et al., 1995**). En revanche la résistance acquise résultent de l'acquisition de nouveaux gènes obtenus soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert des plasmides conjugatifs, de transposons ou par transformation (**Seck, 2005**).

Le phénomène de résistance aux antibiotiques n'est pas du tout récent, il existait bien avant la découverte des antibiotiques par l'Homme. L'évolution des bactéries vers la résistance est inévitable car elle représente un cas particulier de l'évolution générale des bactéries (**Courvalin, 2012 ; Gateau, 2012**). Cette résistance est en perpétuel évolution, elle est devenue un problème important de santé clinique et publique (**Guardabassi et al., 1998 ; Elmanama et al., 2006**).

L'utilisation non contrôlée et continue des antibiotiques par l'homme a conduit à une contamination importante de l'environnement par ces molécules. Parmi les sources qui peuvent contribuer de manière significative à la charge environnementale en antibiotiques on distingue : les déchets hospitaliers, les déchets des usines de traitement des eaux usées (STEP), l'élimination inappropriée des médicaments inutilisés que se soit en médecine vétérinaire, en agriculture, en élevage et en aquaculture (**Nikolaou et al., 2007 ; Kemper, 2008**). Cependant l'homme n'est probablement pas la seule source de contamination du fait que l'environnement et compris le sol sont des réservoirs de plusieurs micro-organismes tel que les champignons et les bactéries capables de produire naturellement les antibiotiques (**Allen et al., 2010**).

Toutefois, la contamination de l'environnement et le sol par les antibiotiques ne s'arrête pas seulement à leur niveau car il se manifeste depuis quelques années, un intérêt majeur pour le devenir des médicaments dans l'environnement aquatique. Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et leurs métabolites sont évacués dans les égouts et peuvent être retrouvés dans les boues et les effluents des stations d'épurations, qui peuvent eux-mêmes être utilisés pour l'arrosage ou la fertilisation des terres agricoles. Ces antibiotiques sont ensuite retrouvés dans les eaux de surfaces ou les eaux souterraines où ils peuvent favoriser l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (**Drieux-Rouzeta et Jarlier, 2014**).

Toujours est-il que l'Homme n'a que récemment commencé à diriger et accélérer cette résistance de façon importante, par une utilisation parfois inadéquate et abusive d'antibiotiques en santé humaine. La résistance peut être excessivement augmentée par la présence de faibles concentrations d'antibiotiques dans l'environnement des bactéries (**Courvalin, 2012 ; Gateau, 2012**).

Des bactéries résistantes aux antibiotiques ont été largement retrouvées dans des milieux aquatiques (**Baquero et al., 2008**). Les rivières par exemple sont des écosystème profondément perturbés par l'activité humaine (**Garcia et al., 2013**), de ce fait elles sont considérées comme de véritable réservoirs de gènes de résistance, car elles sont les destinataires de bactéries provenant de différentes sources tel que : les effluents hospitalier, les effluents des stations d'épuration des eaux usées, les rejets d'élevage et ceux de l'agriculture et parmi les germes retrouvé on distingue : *E.coli*, *Enterobacter spp*, *Aeromonas spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* (**Lupo et Coyne, 2012**).

En république tchèque, des souches d'entérobactéries productrices de β – lactamase à spectre étendu (EBLSE), principalement des souches d'*E.coli* produisant une BLSE de type CTX-M-15, ont été retrouvées dans les effluents traités d'une station d'épuration qui sont déversés dans la rivière Svatka. En Espagne, les eaux de rivière prélevées en aval d'un point de versement d'effluents d'une station d'épuration contenaient plus d'entérobactéries et de souches d'*Aeromonas spp* résistantes aux antibiotiques que les eaux situées en amont de ce point de versement (**Drieux-Rouzet et Jarlier, 2014**).

En 2011 des gènes blaNDM-1 étaient retrouvés au niveau des eaux de surface à New Delhi (**Walsh et al., 2011**). Une autre étude à été effectuée par Isozumi et *al.* a montré également la présence du gène blaNDM-1 chez *K.pneumoniae* dans la rivière Nguu Kim, au Vietnam (**Isozumi et al., 2012**).

En Algérie peu d'études ont été réalisées sur la présence des bactéries résistante aux antibiotiques dans l'environnement hydrique. **Alouache et ces collaborateurs (2011)** ont étudié la résistance aux antibiotiques et la production de BLSE chez les bactéries isolées à partir d'eau de mer au niveau de quatre plages d'Alger où des gènes codant pour les β -lactamases à spectre étendu de type CTX-M-15 ont été détectés chez *E.coli*, ce qui peut signifier que la contamination de l'environnement par des bactéries résistantes peut entraîner la propagation des gènes de résistance. **Habi et Daba (2009)** ont rapporté la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds chez les souches d'entérobactéries isolées des cours d'eaux en Algérie.

Les menaces de pollution qui pèsent sur les différentes eaux de surfaces de la wilaya de Bejaïa sont multiples, cependant Oued Soummam est la majeure source touchée par ce fléau. On doit préciser que le cours du fleuve est jalonné de plusieurs sources de pollution qui ont une part importante dans la dégradation du milieu récepteur et risquent de constituer à l'avenir

la cause essentielle de la pénurie d'eau et des problèmes de santé publique (**Ghadbane, 2003**).

C'est dans ce contexte que nous proposons d'évaluer la contamination d'Oued Soummam de la wilaya de Bejaïa par des bacilles à Gram négatif résistants aux antibiotiques et la caractérisation des phénotypes de résistance des différentes souches isolées. Afin de développer ces aspects nous avons adoptés la méthodologie suivante :

- Prélèvement des échantillons d'eau suivie d'un enrichissement.
- Isolement puis purification des bactéries à Gram négatif.
- Identification des souches par la galerie biochimique classique.
- Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.
- Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines
 - BLSE.
 - Carbapénèmases.

Matériel et Méthodes

I. Présentation de la zone d'étude

I.1 Situation géographique

Vaste de 9125 km², le bassin versant de la Soummam se trouve au Nord de l'Algérie. Il est caractérisé par la présence de deux plateaux (le plateau de Bouira et le plateau de Sétif) et de la vallée de la Soummam. Il est limité au Nord par les montagnes de la grande Kabylie (massif du Djurdjura), par la mer méditerranéenne et les chaînes côtières de la petite Kabylie. Au Sud, il est limité par les monts de Hodna (**Benhamiche, 1997**).

Le système de drainage principal du bassin versant de la Soummam comprend vers l'Ouest, l'Oued Sahel et ses affluents, et vers l'Est, l'Oued Boussellem et ses affluents. Ces deux rivières se réunissent près d'Akbou pour former l'Oued Soummam qui se jette dans la mer méditerranéenne à Bejaïa après un parcours de 80km environ.

La figure ci-dessous illustre la position géographique d'Oued Soummam au niveau de la wilaya de Bejaïa.

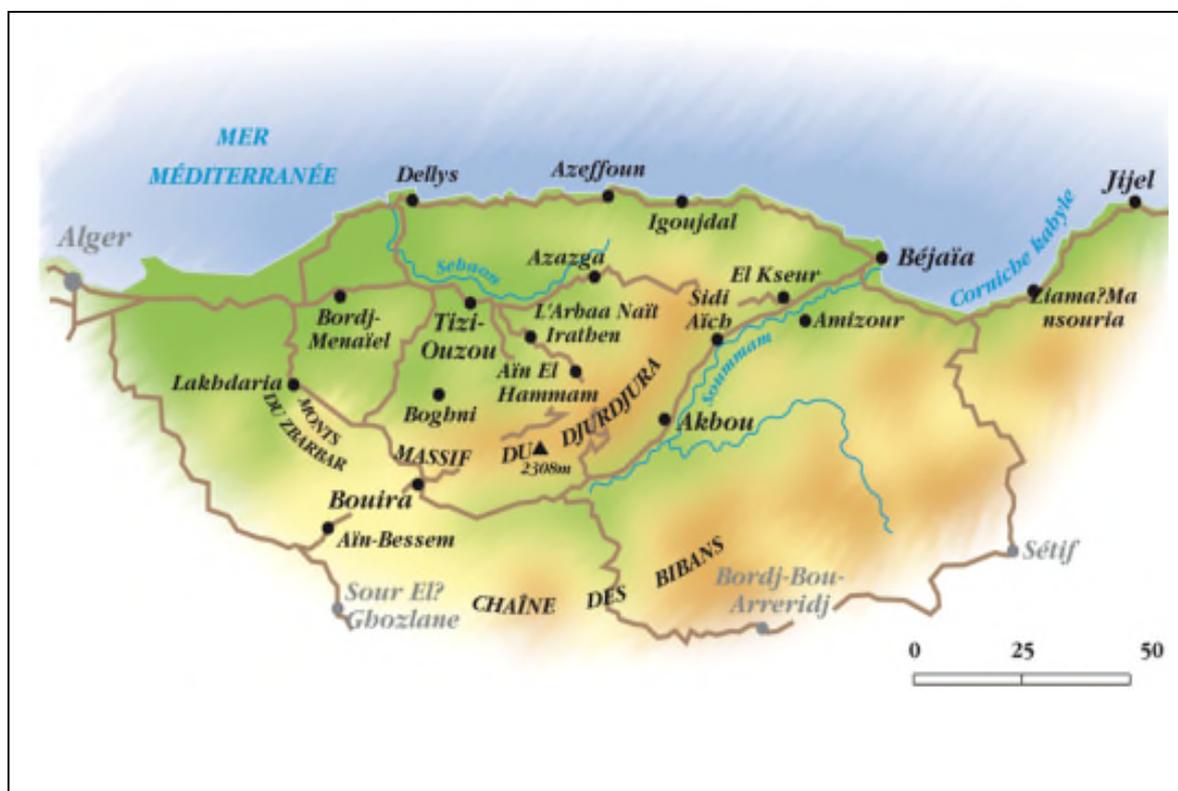


Figure n°01 : Position géographique d'Oued Soummam. (google,earth)

I.2 Principaux affluents

A son embouchure, l'Oued Soummam présente un apport de 700.10^6 m³/an d'eau qu'il déverse en mer Méditerranée (**Visiterv et Gauff, 1987**). L'apport principal provient des affluents de la rive gauche, avec un débit total moyen de $68. 10^6$ m³/an, et les affluents de la rive droite déversent un débit total moyen de $25. 10^6$ m³/an (tableau I). Les affluents de la rive gauche étant situés sur des versants plus arrosés en pluies et en neige, leur permettant de canaliser un écoulement de surface plus important que celui des versants drainés par les affluents de la rive droite.

Tableau I : Débit moyen annuel des affluents de l'Oued Soummam (**Visiterv et Gauff, 1987**).

| Les rives | Affluents de l'Oued Soummam | Superficie du bassin versant (km ²) | Débits moyens (m ³ /an) |
|-------------|-----------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------|
| Rive Gauche | Oued Sahel | 3800 | - |
| | Oued Illoula | 40 | $4. 10^6$ |
| | Oued Ighzer Amokrane | 80 | $12. 10^6$ |
| | Oued Remila | 100 | $28. 10^6$ |
| | Oued El Kseur | 55 | $12. 10^6$ |
| | Oued Ghir | 50 | $12. 10^6$ |
| Rive Droite | Oued Boussellam | 4300 | - |
| | Oued seddouk | 125 | $10. 10^6$ |
| | Oued Amassine | 195 | $15. 10^6$ |
| | Oued Amizour | 55 | - |

II. Échantillonnage

II.1 Choix des points de prélèvements

Les points de prélèvement ont été choisis là où il y a un usage important de la rivière par l'homme que ce soit dans le domaine industriel au niveau des centres urbains ou encore là où il y a prédominance agricole. Dans le cadre de notre étude nous avons opté pour six points de prélèvement jugés comme étant les plus représentatifs, en partant de TAZMALT serpentant ainsi le bassin versant de la Soummam jusqu'à son déversement dans la mer (Sidi Ali labher). Les différents sites de prélèvements sont illustrés dans le tableau II.

Tableau II : Sites de prélèvements.

| Région | Sites de prélèvement |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TAZMALT | 1. Sortie de Tazmalt 2. Alaghen (Oued sahel) |
| AKBOU | 3. Entrée d'akbou 4. Bouzarouel 5. Zone industrielle |
| IGHZER AMOKRAN | 6. Usine ifri 7. Décharge de salouana |
| SIDI AICH | 8. Takarietz 9. Sidi Aich 500m avant le pont 10. Sidi Aich 50m après le pont |
| EL KSEUR | 11. Remila 12. Village agricole 13. Pont d'el kseur |
| BEJAIA | 14. Oued mellala 15. Pont irreyahen 16. Déversement d'Oued Soummam dans la mer (Sidi Ali labher) |

La figure ci-dessus illustre les 16 points de prélèvement effectués tout au long d'Oued Soummam.



Figure n°02 : Positionnement des 16 points de prélèvement tout au long d'Oued Soummam.
(Google earth)

II.2 Prélèvement

Dans le cadre de notre étude nous avons effectué deux prélèvements d'eau d'Oued Soummam, l'un en mois de Février et l'autre en mois de Mars et au cours de chaque prélèvement nous avons recueilli 16 échantillons d'eau dans 16 points de prélèvement (tableau II).

Tous nos prélèvements ont été effectués dans des contenants en verre d'une capacité de 250mL préalablement stérilisés puis ils sont immédiatement étiquetés pour éviter tout risque de confusion sur l'identité de l'échantillon (lieu et date du prélèvement).

II.3 Conditionnement et transport des échantillons

Si la durée de transport dépasse une heure et si la température extérieure est supérieure à 10°C, les prélèvements sont placés dans une enceinte réfrigérée. Les flacons sont

maintenus à une température comprise entre 2 et 5°C dans une glacière. L'analyse débute 8 heures au plus tard après le prélèvement (Delarras et Trèbaol, 2003)

III. Enrichissement

1. Enrichissement au cours du 1^{ier} prélèvement

Nous avonsensemencé 50ml d'eau à analysé de chaque échantillon d'eau dans 100ml de bouillon nutritif auquel nous avons additionné deux solutions d'antibiotiques la céftazidime (CAZ) et la vancomycine (VAN) à des concentrations finales de 2µg/ml et 8µg/ml respectivement, ensuite les flacons sont incubés à 37°C pendant 18 à 24h.

2. Enrichissement au cours du 2^{ème} prélèvement

Dans le second prélèvement, nous avons égalementensemencé 50ml d'eau à analysé de chaque prélèvement dans 100ml de bouillon nutritif auquel nous avons ajoutés de l'ertapénème (ETP) et de la vancomycine (VAN) à des concentrations finales de 0.5µg/ml et 8µg/ml respectivement, ensuite les flacons sont incubés à 37°C pendant 18 à 24h.

IV. Isolement et purification

A partir des bouillons considérés comme positif (flacons présentant un trouble) et à l'aide d'une anse de platine, nous avonsensemencé la gélose Mac conkey contenant de la CAZ à une concentration finale de 4µg/ml, cela à été effectué pour le 1^{ier} prélèvement, cependant au cours du 2^{ème} prélèvement, la CAZ a été remplacé par l'ETP à une concentration finale de 0.5 µg/ml. Les boitesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation, les colonies ont fait l'objet d'une purification par repiquages successifs sur le même milieu d'isolement.

V. Identification des souches

Elle est basée sur les caractères cultureux (couleur, taille, aspect des colonies), la coloration de Gram et les tests biochimiques.

Les tests biochimiques effectués pour l'identification des souches sont les suivant :

- Utilisation des sucres sur milieu TSI.
- Utilisation du mannitol et vérification de la mobilité sur milieu mannitol mobilité.
- Utilisation du citrate comme seul source de carbone sur milieu citrate de Simmons.
- Le milieu Clark et Lubs permet l'étude des produits de fermentation du glucose.
- Le milieu urée indole permet la recherche d'uréase, TDA et la production d'indole.
- Le milieu bouillon nitraté permet la recherche du nitrate réductase.
- Production d'indole en utilisant l'eau péptonée exempte d'indole (à 37 et 44°C).

VI. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches identifiées aux antibiotiques est mise en évidence par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton selon les recommandations du comité français de l'antibiogramme de la société française de microbiologie et European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CASFM_EUCAST_2015).

1. Inoculum

A partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une anse de platine 2 à 3 colonies bien isolées qu'on dissocie dans 5ml d'eau physiologique, bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente au standard Mc Farland (correspondant à environ 10^8 UFC/ml).

2. Ensemencement

Après une dilution à 10^{-1} de l'inoculum préparé, l'ensemencement est fait par la méthode d'écouvillonnage ; on trempe l'écouvillon dans la suspension bactérienne, on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface du milieu gélosé Muller Hinton, de haut en bas, en stries serrées. On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans

oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Ensuite on dépose les disques d'antibiotiques et on incube les boîtes à 37°C pendant 24h.

3. Lecture

On mesure à l'aide d'un pied à coulisse les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) a été faite selon les critères définis par la société française de microbiologie et European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CASFM_EUCAST_2015).

Les antibiotiques testés ainsi que leurs charges sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Liste des antibiotiques testés (OXOID).

| Antibiotiques | Symboles | Familles | |
|---------------------------------|----------|--------------------|----------------------------------|
| Amoxicilline+acide clavulanique | AMC | Amino-penicillines | Famille des β – lactamines |
| Céftazidime | CAZ | C3G | |
| Céfotaxime | CTX | | |
| Céfoxitine | CX | C2G | |
| Céfepime | FEP | C4G | |
| Aztréonam | AT | Monobactames | |
| Imipénème | IMP | Carbapénèmes | |
| Ertapénème | ETP | | |
| Tétracycline | TE | Tétracyclines | |
| Gentamycine | CN | Aminosides | |
| Amikacine | AK | | |
| Ciprofloxacine | CIP | Fluoroquinolones | |

VII. Déduction des phénotypes de résistance

1. Recherche des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Jarlier, 1988)

- **Principe**

La démonstration phénotypique de la présence de β -lactamase à spectre élargie consiste à mettre en évidence une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamase (l'acide clavulanique) et un disque de C3G.

- **Technique**

Elle consiste à placer des disques de céftazidime, céfotaxime et céfepime (30 μ g chacun) à une distance définie (20mm centre à centre) d'un disque d'AMC (amoxicilline-a.clavulanique) (20 μ g et 10 μ g, respectivement). Incuber pendant 18 heures à 37°C.

- **Lecture**

L'apparition d'une image de synergie visible entre le disque d'AMC et les disques CAZ, CTX ou FEP indique la production d'une BLSE.

2. Recherche des céphalosporinases

Pour mettre en évidence la production d'une céphalosporinase on teste la résistance des souches à la Céfoxitine qui est considéré comme marqueur phénotypique de céphalosporinase.

3. Recherche des carbapénèmases (Bakour et al., 2014)

La recherche des carbapénèmases sont misent en évidence par le Carba NP-test modifié

- **Préparation de la solution 'A'**

- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume [0.5g de poudre dans 100ml d'eau distillée].
- Mélanger 2 ml de la solution concentrée de rouge phénol (bien vortexer avant pipetage) dans 16.6 ml d'eau distillée.
- Ajouter 180 μ l d'une solution de $ZnSO_4$ 10mM pour obtenir une concentration finale de $ZnSO_4$ à 0.1mM.
- Ajuster le pH à 7 avec une solution d' NaOH (N1).

- **Protocol**

- Dans un tube Eppendorf, mettre 200 μ l de tampon de lyse : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB 0.02%) [0.02g de poudre dans 100ml d'eau distillée].
- Bien suspendre une ose calibrée de colonies bactériennes, vortexer 1 à 2 min.
- Transférer la suspension bactérienne dans 2 tubes Eppendorf 'a' et 'b' (100 μ l dans chaque tube).
- Ajouter 100 μ l de solution 'A' dans le tube Eppendorf 'a' puis 100 μ l de solution 'A' + imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf 'b', vortexer 5sec.
- Incuber à 37°C pendant un maximum de 2h.
- Lecture visuelle de la couleur dans chaque tube Eppendorf.

Il est a noté que le tube 'a' est considéré comme témoin négatif.

Tableau IV : Interprétation des résultats du Carba NP-test modifié.

| | Tube a | Tube b |
|----------------------|--------|--------------|
| Pas de carbapénèmase | Rouge | Rouge |
| Carbapénèmase | Rouge | Orange/Jaune |
| Non interprétable | Jaune | Jaune |

Résultats

Notre travail c'est déroulé sur une période de trois mois allant de février jusqu'au mois de Mai 2015 au niveau du laboratoire de Microbiologie à l'université A. Mira de Bejaïa. Une collecte d'échantillon d'eau est effectué en deux sorties au cours des quelles nous avons ciblé 16 différents points de prélèvement tout le long du Oued Soummam (wilaya de Bejaia).

I. Isolement des souches

Durant la période d'étude, 100 bacilles à Gram négatif (BGN) ont été isolés, le tableau ci-dessous illustre leur répartition sur les deux campagnes de prélèvement.

Tableau V : Répartition des souches selon la date des prélèvements.

| Prélèvements | Date de prélèvement | Effectif | Pourcentage% |
|------------------------------|---------------------|--------------------|--------------|
| 1 ^{er} prélèvement | 14-02-2015 | 51 souches isolées | 51% |
| 2 ^{ème} prélèvement | 14-03-2015 | 49 souches isolées | 49% |
| | | 100 souches | 100% |

II. Identification des souches

La figure ci-dessous montre que parmi les 100 souches de bacille à Gram négatif isolées, 80 d'entre elles appartiennent à la famille des entérobactéries soit un taux de 80% des souches isolées, tandis que (20 %) c'est-à-dire 20 souches appartiennent à d'autre bacille à Gram négatif.

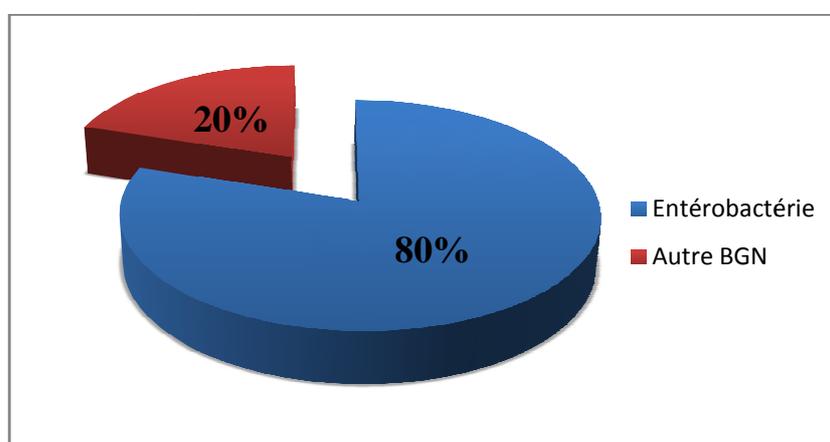


Figure n° 03 : Répartition des bacilles à Gram négatif.

II.1 Répartition des souches par famille

Les 100 souches isolées sont répartie en trois grandes familles de Gram négatif (Tableau VI). 80 souches appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* soit un taux de 80%, les 20% restant sont répartie en deux autres familles à savoir la famille des *Moraxellaceae* avec 18% (18 souches) et la famille des *Pseudomonadaceae* qui est représentée par 2 souches soit un taux de 2%.

Tableau VI : Répartition des différentes souches isolées par famille.

| Famille des souches | La souche | Nombre total des souches |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| <i>Enterobacteriaceae</i> | <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. coli</i> • <i>Citrobacter freundii</i> • <i>Klebsiella pneumoniae</i> • <i>Klebsiella oxytoca</i> • <i>Enterobacter sp</i> • <i>Plesiomonas sp</i> | 80 souches |
| <i>Moraxellaceae</i> | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Acinetobacter spp</i> | 18 souches |
| <i>Pseudomonadaceae</i> | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudomonas spp</i> | 2 souches |

II.2 Répartition des souches isolées par espèces

D'après la figure n° 04 ci-dessous, parmi les entérobactéries isolés, *E.coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 49%, suivi de *Citrobacter freundii* avec 18%, de *K.pneumonia* et *K.oxytoca* avec des taux de 5% et 3% respectivement, un taux de 3% est noté vis-à-vis d'*Enterobacter sp*, et en fin *Plesiomonas sp* avec un taux de 2%.

Parmi les autres bacilles à Gram négatif non fermentaire isolés (20%), *Acinetobacter spp* est le plus majoritaire avec un taux de 18% et les 2% restants sont représentés par *Pseudomonas spp*.

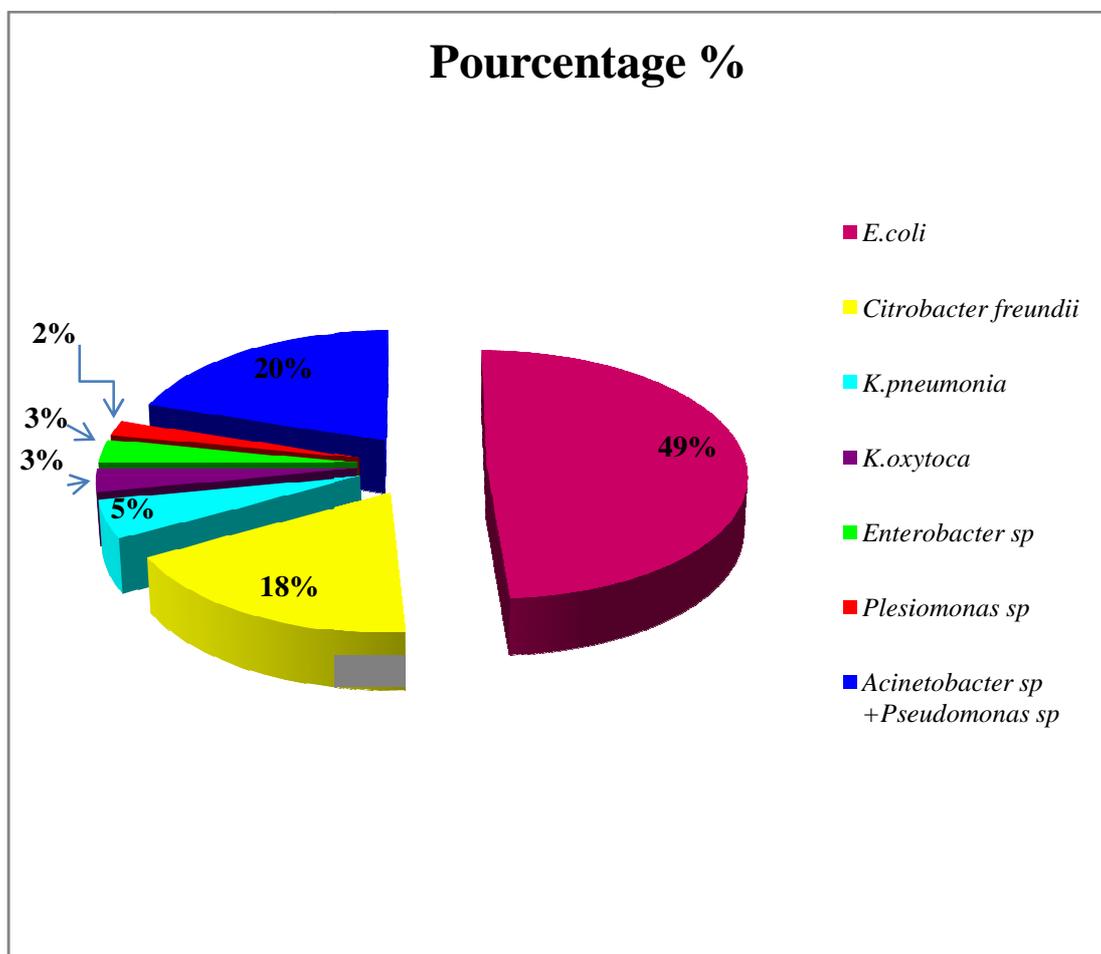


Figure n° 04 : Répartition des différents bacilles à Gram négatif isolées à partir d'Oued Soummam.

III. Sensibilité des souches à Gram négatif isolées aux antibiotiques

Un panel de 12 antibiotiques de différentes familles a été utilisé pour tester la sensibilité aux antibiotiques des 100 souches à Gram négatif isolées à partir d'eau d'Oued Soummam. Les résultats obtenus sont résumés dans les annexes III, IV, V et VI.

III.1 Sensibilité des souches à Gram négatif aux β -lactamines

Les 100 souches à Gram négatif isolées ont été testées vis-à-vis de 8 β – lactamines à savoir : **AMC** (amino-penicilline), **CX** (C2G), **CAZ** et **CTX** (C3G), **FEP** (C4G), **AT** (monobactames) et en fin 2 carbapénèmes il s'agit d'**IMP** et d'**ETP**. (Annexe III et IV).

La figure n° 05 ci-dessous nous fait part des taux de résistance des souches à Gram négatif isolées à partir du 1^{er} ainsi que du 2^{ème} prélèvement vis-à-vis des 8 antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamine testés.

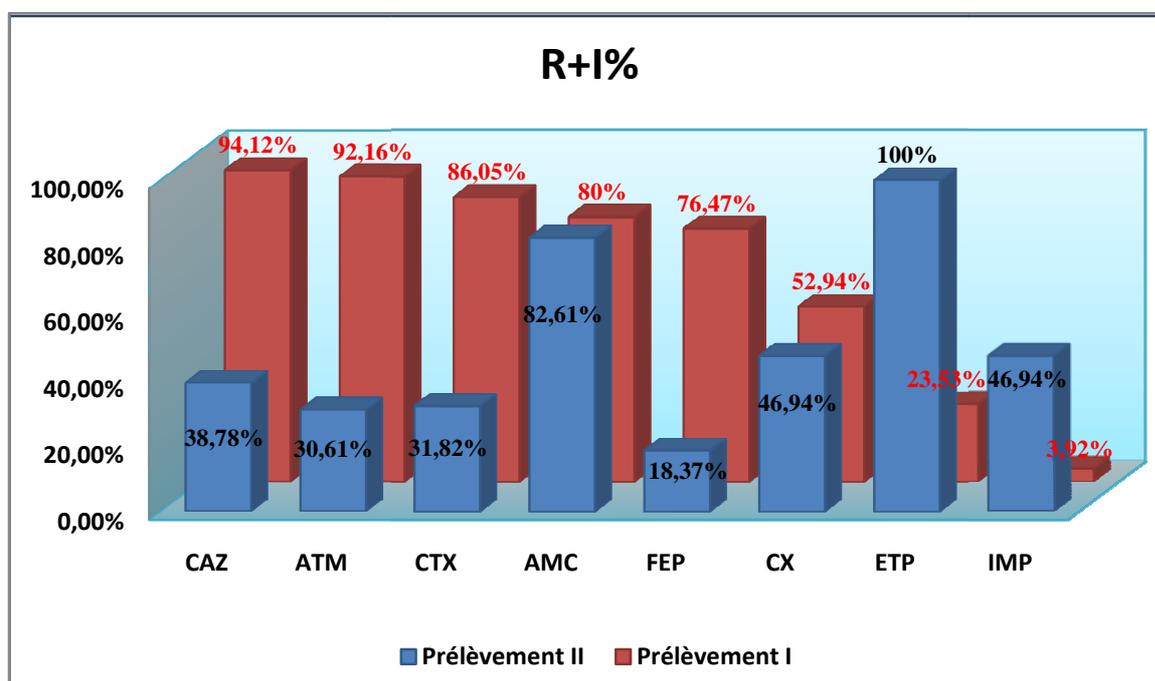


Figure n°05 : Taux de résistance aux β -lactamines des souches Gram négatif isolées à partir du 1^{er} et du 2^{ème} prélèvement.

D'après la figure n° 05, le taux de résistance des souches isolées à partir du 1^{ier} prélèvement à l'égard des β -lactamines reste important allant jusqu'à 94.12% pour la CAZ, suivi de la résistance à l'ATM, CTX, AMC et la FEP avec des taux de 92.16%, 86.05%, 80%, 76.47% respectivement. On note également une résistance moyenne de 52.94% impliquant la CX, le taux de résistance vis-à-vis de l'ETP est de 23.53% alors que l'IMP est la molécule la plus efficace sur ces souches avec un taux de résistance de 3.92%.

Par ailleurs, le taux de résistance des souches isolées à partir du 2^{ème} prélèvement montre une différence assez notable par rapport au 1^{ier} prélèvement. Une résistance de 100% est observée vis-à-vis de l'ETP, suivi de la résistance à l'AMC avec 82.61%, un taux à part égale de 46.94% est observé pour la CX et l'IMP, suivi de la résistance à la CAZ, CTX, ATM avec des taux de 38.78%, 31.82%, 30.61% respectivement et en fin le taux de résistance vis-à-vis de la FEP est de 18.37%.

III.2 Sensibilité des souches à Gram négatif aux autres familles d'antibiotique

En plus des β -lactamines testés vis-à-vis des souches isolées, nous avons également testé la sensibilité des 100 souches à Gram négatif isolées d'Oued Soummam à d'autre famille d'antibiotique à savoir les aminosides (CN et AK), fluoroquinolones (CIP) et tétracyclines (TE). Les résultats des antibiogrammes sont résumés dans les annexes V et VI.

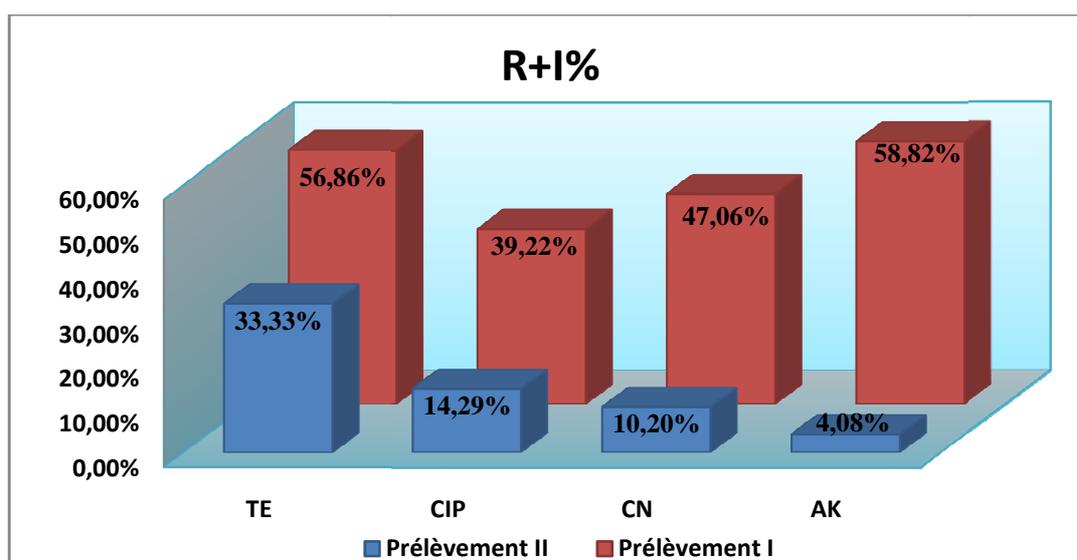


Figure n°06 : Taux de résistance des bacilles à Gram négatif isolés à partir du 1^{ier} et du 2^{ème} prélèvement aux autres familles d'antibiotiques.

A partir de la figure n°06 nous constatons que les taux de résistance des bacilles à Gram négatif isolés du 2^{ème} prélèvement sont inférieurs à ceux observés dans le 1^{ier} prélèvement.

Dans le 1^{ier} prélèvement, nous remarquons que le taux le plus élevé est représenté par l'AK avec 58.82%, suivi de la TE avec un taux de 56.86%, 47.06% est noté vis-à-vis de CN et en fin la CIP enregistre un taux 39.22%.

Concernant le 2^{ème} prélèvement, les taux de résistance sont classés dans un ordre décroissant allant de 33.33% pour la TE, 14.29% pour la CIP, 10.20% pour la CN et 4.08% pour l'AK.

IV. Phénotypes de résistance probables

IV.1 β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Un DD-test positif est illustré par une image de synergie entre le disque d'AMC et les disques CAZ, CTX ou la FEP. Par ailleurs l'apparition d'une telle image est signe d'une présence probable de BLSE. Le tableau ci-dessous nous montre que 44 souches parmi les 100 isolées produisent probablement une BLSE. 38/44 souches appartenaient au 1^{ier} prélèvement et 6/44 au 2^{ème} prélèvement. La figure n°07 nous fait part de la distribution des BLSE selon les espèces.

Le tableau ci-dessous illustre la répartition des souches productrices de BLSE probable sur les deux campagnes de prélèvement.

Tableau VII : Les BLSE produites ainsi que le nombre de souches productrices.

| Phénotype de résistance | Nombre de souches productrices dans le 1 ^{ier} prélèvement | Nombre de souches productrices dans le 2 ^{ème} prélèvement |
|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| BLSE+ | 38/51 souches | 6/49 souches |
| 44% des souches sont productrices de BLSE | | |

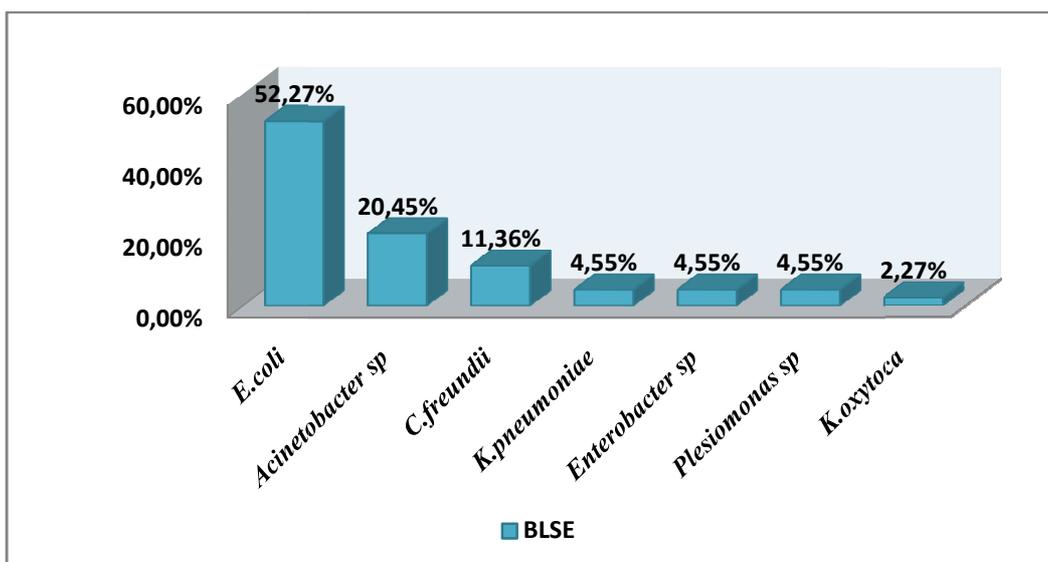
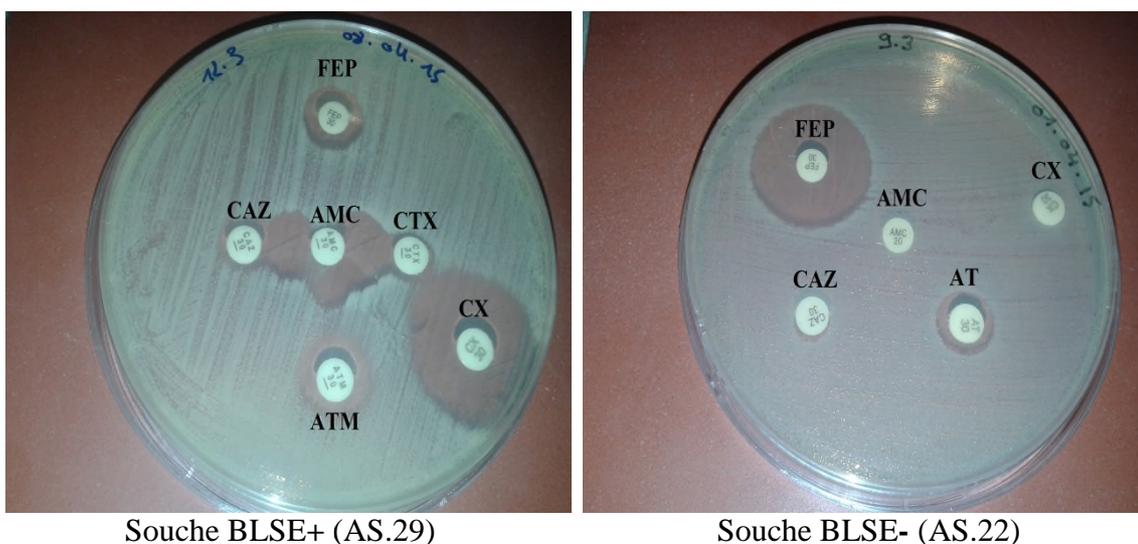


Figure n° 07 : Répartition des BLSE par espèces.

D’après la figure n°07 ci-dessus nous constatons que parmi les souches productrices de BLSE, 79.55% d’entre elles sont des entérobactéries (35/44) répartie comme suite : *E.coli* avec un taux de 52.27% (23/44), *Citobacter freundii* avec 11.36%, *Enterobacter sp*, *Plesiomonas sp*, *K.pneumoniae* avec 4.55% et *K.oxytoca* avec 2.27%. Par ailleurs, les autres BGN sont représenté que par une seule espèce *Acinetobacter spp* avec un taux de 20.45% à savoir 9/44 souches. La figure ci-dessous montre des photos de DD-test présentant une souche productrice de BLSE et une souche non productrice de BLSE.



Souche BLSE+ (AS.29)

Souche BLSE- (AS.22)

Figure n°08 : Photos de souches produisant ou pas une BLSE.

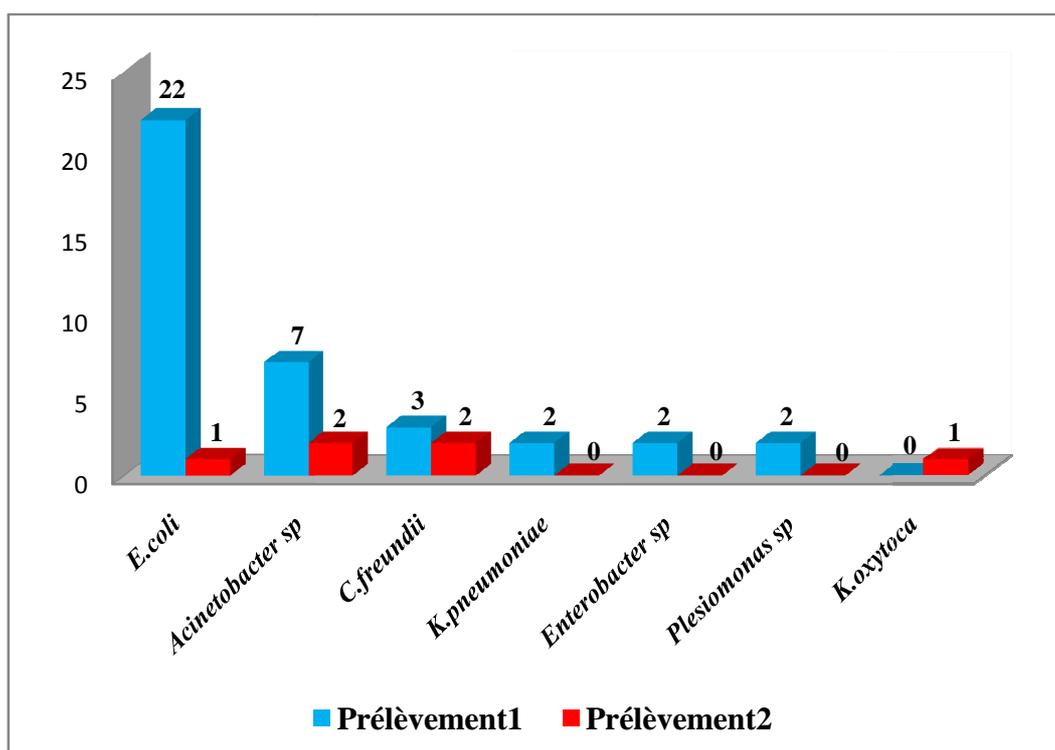
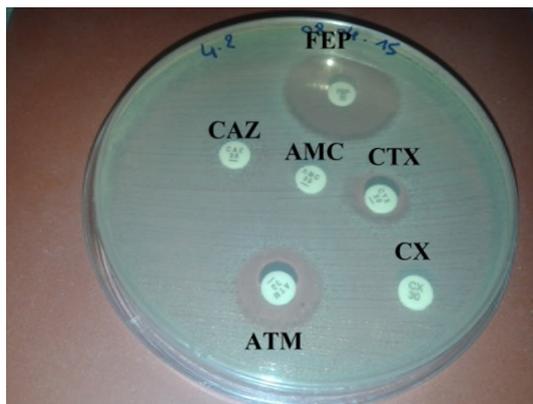


Figure n°09 : Répartition des BLSE par espèces isolées en 1^{ier} et 2^{ème} prélèvement.

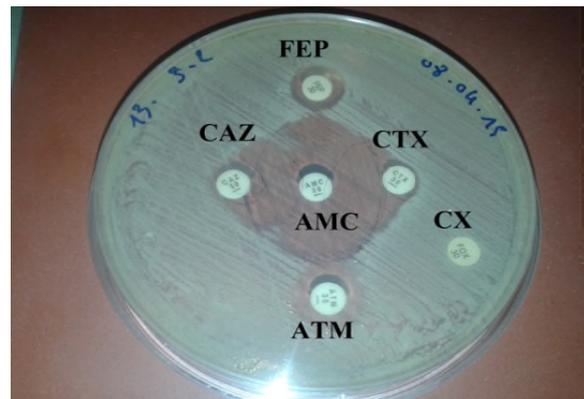
A partir de la figure n°09 nous constatons que 38/44 souches productrice de BLSE sont isolées a partir du 1^{ier} prélèvement soit un taux de 86.36%, cependant nous avons obtenu que 6 souches productrice de BLSE dans le second prélèvement avec un taux de 13.64%.

IV.2 Céphalosporinases

En se basant sur la résistance à la céfoxitine, 33/100 des souches isolées d'Oued Soummam sont probablement productrices d'une céphalosporinase soit un taux de 33%. Dont 19 (AmpC) et 14 (AmpC) + (BLSE). La figure n°10 montre un exemple d'une souche productrice d'une céphalosporinase probable et celle qui possède les deux enzymes (AmpC) + (BLSE) probables.



Souche AmpC (AS.11)



Souche AmpC+ et BLSE+ (AS.32)

Figure n°10 : Photo d'une souche productrice d'une AmpC et une souche productrice d'une AmpC + BLSE.

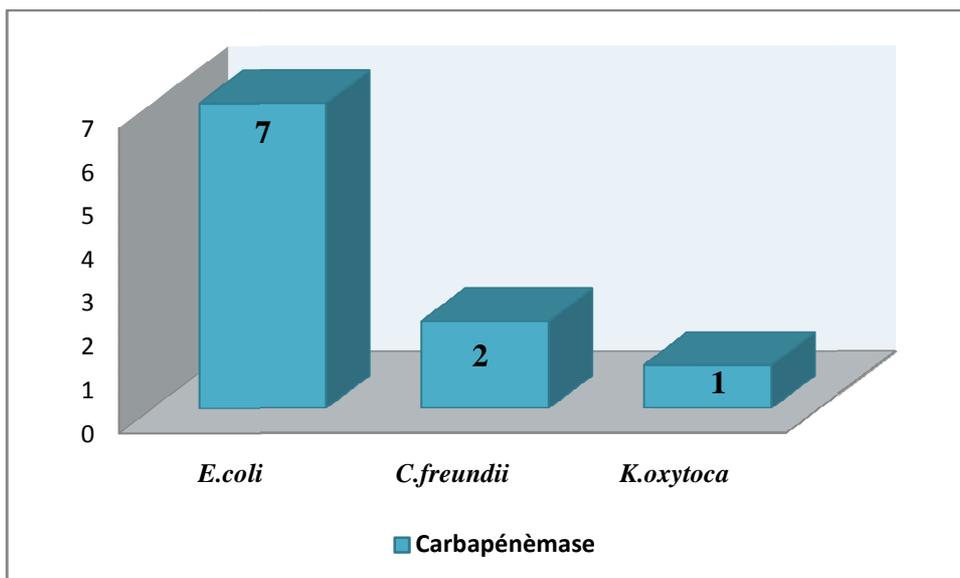
IV.3 Carbapénèmases

La production des carbapénèmases par les souches bacilles à Gram négatif isolées d'Oued Soummam est mise en évidence par le Carba NP-test modifié. On a testé quelques souches qui présentaient un profil de résistance vis-à-vis de l'IMP et de l'ETP.

Tableau VIII : Profil de résistance des souches testées.

| Phénotype de résistance | Nombre de souches productrices | Taux de production |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Carbapénèmase + | 10/11 | 90.90% |

Parmi les 11 souches bacilles à Gram négatif que nous avons testé, le Carba NP-test est positif pour 10 souches, elles sont donc probablement productrices de carbapénèmases soit un taux de 90.90%.



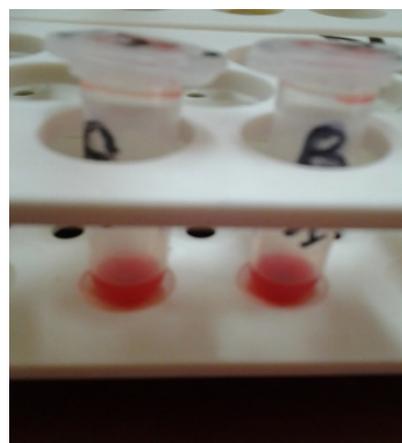
La figure n° 11 : La répartition des souches productrice de Carbapénèmase par espèces.

La figure n° 11 ci-dessus montre que 7/10 des souches productrices d'une Carbapénèmase sont des *E.coli*, suivi de *C.freundii* avec 2 souches et en fin *K.oxytoca* avec 1 souche.

La figure ci-dessous montre des photos de Carba NP-test modifié présentant une souche productrice d'une carbapénèmase probable et une souche non productrice d'une carbapénèmase.



Souche carbapénèmase + (AS.83)



Souche carbapénèmase – (AS.82)

Figure n° 12 : Image représentant des résultats du Carba NP-test modifié.

Discussion des Résultats

Les rivières sont considérées comme des réservoirs de bactéries multi résistantes, car elles recueillent les eaux de surface contaminées par des rejets d'origines différentes, par exemple, les effluents des fermes d'élevage, l'aquaculture, les effluents hospitaliers, ou encore les effluents des stations de traitement des eaux usées (**Lupo et al., 2012**).

100 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées à partir d'eau de surface d'Oued Soummam. 80% des espèces isolées appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, ce taux est un peu plus élevé comparé à celui qui a été rapportée par **Lu Su-Ying et ses collaborateurs en 2010** (Grande diversité des bactéries productrices de BLSE dans un environnement de sédiments de la rivière urbaine) où le taux des entérobactéries isolées été de 69.64% (**Lu SY. et al., 2010**). Les 20% des souches restant étaient identifiées comme d'autres bacilles à Gram négatif. Dans une autre étude, effectuée en 2012 par **Tacão et ses collaborateurs** sur la résistance aux antibiotiques à large spectre dans les systèmes aquatiques, parmi la totalité des souches isolées, 35% appartenaient à la famille d'entérobactéries c'est un taux largement inférieur à celui que nous avons obtenu. Cependant, 41,7% ont été identifiées comme autres bacilles à Gram négatif (**Tacão et al., 2012**) soit le double du taux que nous avons observé à partir d'Oued Soummam.

Durant la présente étude, parmi les 80% des entérobactéries, 49% des souches étaient identifiées comme étant des *E.coli*, l'Oued Soummam est donc contaminé par des coliformes fécaux thermotolérants. En effet, *E.coli* est le germe de référence pour la détection de la pollution fécale dans l'eau, la présence et la densité de *E.coli* dans l'eau est largement utilisée pour mesurer et réguler la qualité de l'eau (**Conseil national de recherches et du Comité sur les indicateurs pour les pathogènes d'origine hydrique ; 2004**). Nous avons également isolé : *Citrobacter freundii* avec un taux de 18%, *K.pneumoniae* 5%, *K.oxytoca* 3%, *Enterobacter sp* 3%, *Plesiomonas sp* 2%. Parmi les 20% des souches identifiées comme autres bacilles à Gram négatif, 18% étaient des *Acinitobacter spp* et 2% comme *Pseudomonas spp*, ces résultats montrent que la plus part des bactéries isolées de ces milieux aquatiques sont des Gram négatif, aérobies et hétérotrophes (**Holder-Franclin et al.,1992**). Nos résultats concordent avec ceux observés par Ronald et ses collaborateurs en 2002 dans une étude sur la résistance aux antibiotiques des bactéries bacilles à Gram négatif isolées des rivières aux États-Unis, où en plus des germes que nous avons identifiés, ils ont également isolés *Serratia* et *Proteus*, mais moins fréquemment que les autres germes (**Ronald et al., 2002**).

Au cours de notre étude, les résultats de la sensibilité des souches isolées à partir d'Oued Soummam vis-à-vis des antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines est importante allant jusqu'à 81.25% pour l'AMC, puis 67%, 62%, 59%, 48%, 25% pour CAZ, ATM, CTX, FEP et IMP respectivement, ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Lu Su-Ying et ses collaborateurs en 2010** (Grande diversité des bactéries productrices de BLSE dans un environnement de sédiments de la rivière urbaine) où ils ont observé un taux de résistance de 73% vis-à-vis de la CAZ, la résistance à l'ATM, CTX, FEP et IMP est de 74%, 72%, 70% et 5% respectivement, cependant le taux de résistance à l'AMC est inférieur à celui que nous avons obtenu, il est de 36% (**Lu Su-Ying et al., 2010**). Une autre étude réalisée par Ronald et ses collaborateurs en 2002 sur la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif isolées des rivières aux États-Unis, révèle de très faibles taux de résistance vis-à-vis de l'AMC, CTX, CAZ et l'IMP avec des taux de 68%, 12%, 6% et 0% respectivement (**Ronald et al., 2002**).

Parmi les 100 souches isolées d'Oued Soummam, 44 sont probablement productrices de BLSE soit un taux de 44%, ce taux est relativement élevé par rapport à celui observé par **Tacão et ses collaborateurs en 2012** sur la résistance aux antibiotiques à large spectre dans les systèmes aquatiques, où 25.83% des souches étaient productrices de ces enzymes (**Tacão et al., 2012**). La production des BLSE confère la résistance aux β -lactamines et cette résistance est fréquemment associée à la résistance aux différentes familles d'antibiotiques telles que la Triméthoprime, quinolone, aminoside et tétracycline (**Falagas et Karageorgopoulos, 2009**). Cela peut expliquer les taux de résistance des souches BGN que nous avons observés vis-à-vis des β -lactamines et des autres classes d'antibiotiques.

33/100 des souches isolées d'Oued Soummam sont probablement productrices de céphalosporinase soit un taux de 33%. 19 (57.58%) d'entre elles sont productrices de l'AmpC seule, 14 (42.42%) sont productrices d'une AmpC associées aux BLSE. Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Amador et ses collaborateurs en 2014** lors d'une étude sur la résistance aux antibiotiques dans les eaux usées, où un taux de 48.4% des souches étaient productrices d'une (AmpC) et 35.3% des souches étaient productrices d'une (AmpC) + (BLSE) (**Amador et al., 2015**).

Parmi les 11 souches bacilles à Gram négatif testées, le Carba NP-test modifié est positif pour 10 souches, elles sont donc probablement productrices de carbapénèmases,

ces souches productrices de carbapénèmases appartenait toutes à la famille des entérobactéries. Des souches productrices de carbapénèmases ont été détectés dans les rivières aux États-Unis (Aubron *et al.*, 2005), la Chine (Chen *et al.*, 2011), France (Girlich *et al.*, 2010), et le Portugal (Poirel *et al.*, 2012), indiquant qu'une diffusion mondiale des carbapénèmases dans l'environnement est actuellement en cours. La résistance aux carbapénèmes est rare chez les *Enterobacteriaceae* et peut être médiée par trois mécanismes: hyperproduction d'un type AmpC céphalosporinase combinée à une diminution de la perméabilité à travers la membrane externe, une diminution de l'affinité de protéines liant la pénicilline qui constituent des protéines cibles pour les carbapénèmes, et carbapénème-hydrolysant les β -lactamases (Lee *et al.*, 1991 ; De champs *et al.*, 1993).

Durant ce travail, nous avons également testé la sensibilité des souches isolées d'Oued Soummam aux autres classes d'antibiotiques, où les taux de résistance sont faibles par rapport à ceux observés vis-à-vis des antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines. Des taux de 51.51%, 29% et 27% ont été observés vis-à-vis de la TE, CN et CIP respectivement, ces résultats concordent avec ceux rapportés par Zurfluh et ses collaborateurs en 2013 (Caractéristiques des BLSE et des carbapénèmases produites par des *Enterobacteriaceae* isolées des rivières et lacs en Suisse), où un taux de résistance de 57.6% a été observé vis-à-vis de la TE, la résistance à la CN et la CIP est de 36.5%, 34.2% respectivement (Zurfluh *et al.*, 2013). Cependant, nous avons noté que 95% des souches isolées d'Oued Soummam étaient sensibles à l'AK, ce résultat est similaire à celui observé par Su-Ying Lu et ses collaborateurs en 2010 (Grande diversité des bactéries productrices de BLSE dans un environnement de sédiments de la rivière urbaine) où ils ont constaté une efficacité de 100% de l'AK vis-à-vis de la totalité des isolats (Lu SY. *et al.*, 2010).

Les souches d'*E.coli* sont naturellement sensibles à toutes les β -lactamines, malgré la présence d'une céphalosporinase de classe C (AmpC) qui est exprimé à très bas niveau (Lavigne *et al.*, 2002). La résistance acquise aux β -lactamines repose essentiellement sur la synthèse de β -lactamases plasmidiques généralement sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases (Maurin *et al.*, 1995). Durant ce travail 45/49 souches d'*E.coli* sont résistantes à l'AMC avec un taux de 91.84%, la résistance vis-à-vis CAZ, CTX sont de l'ordre de 73.47% et 48.98%, la résistance aux C3G est souvent traduite par la production d'une BLSE et d'une AmpC, ces deux types d'enzymes confèrent une résistance aux autres antibiotiques de la famille des β -lactamine (Blaak *et al.*, 2014). Dans notre étude, la production des β -

lactamases à spectre étendu est enregistrée pour 23/49 souches d'*E.coli* soit un taux de 46.94%. En fin, le taux de résistance à l'IMP était de 34.69%. En ce qui concerne la résistance des souches d'*E.coli* vis-à-vis d'autres familles d'antibiotique, des taux de 69.39%, 44.90%, 38.78% et 2.04% étaient observés pour la TE, CIP, CN et AK respectivement. Ces taux obtenus au cours de notre étude sont très élevés par rapport a ceux rapportés par Laroche et ses collaborateurs en 2009 lors d'une étude sur la sensibilité aux antibiotiques et la présence des intégrons de classe 1, 2 et 3 chez *E.coli* isolé d'un estuaire, la Seine (France), où de faibles taux de résistance ont été rapportés que ce soit vis-à-vis des β -lactamines ou d'autres familles d'antibiotiques, des taux de 15.4%, 3.8%, 1.2% et 0% pour l'AMC, CAZ, CTX et IMP respectivement, 43.6%, 9.6%, 5.8% et 1.9% été rapporté vis-à-vis de la TE, CIP, CN et l'AK respectivement (**Laroche et al., 2009**).

18 souches de *Citrobacter freundii* ont été isolées, leurs taux de production de BLSE est de 11,36%. Elles présentent une résistance moyenne vis-à-vis des β -lactamines tel que l'AMC, FOX et la CAZ avec des taux de 58.82%, 50% et 44.44%, ce profil de résistance est similaire a celui observé par Diab et al en 2008 où des taux de 52.22%, 46.82% et 38.12% ont été observé vis-à-vis de l'AMC, FOX et la CAZ respectivement (**Diab et al., 2008**).

Citrobacter freundii est naturellement résistante aux aminopénicillines seul ou associées aux inhibiteurs et à la céfoxitine par production d'une β -lactamase chromosomique inductible de classe C. Certains isolats n'expriment pas ou faiblement leur résistance naturelle aux β -lactamines. (**Sougakoff et Trystram, 2003**).

Au cours de notre travail nous avons également isolés cinq souches de *K.pneumoniae* et trois souches de *K.oxytoca*. Les souches de *K.pneumoniae* sont avérées résistantes à la plus part des β -lactamines testés. Les souches résistantes acquièrent leur résistance en produisant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui sont des enzymes de la classe A. Les mutants TEM et SHV sont les dérivés de β -lactamases communes qui ont subi une ou plusieurs substitutions d'acides aminés à proximité du site actif de l'enzyme, ce qui a augmenté leur affinité et l'activité hydrolytique contre les céphalosporines de troisième génération et les monobactames (**Subha et al., 2002**). Concernant *K.oxytoca*, deux des trois souches isolées étaient productrice de BLSE, cela explique leurs résistance a la plus part des β -lactamines, elles présentaient également un taux de résistance de 100% vis-à-vis de l'ETP cela est probablement due à la production d'une carbapénèmase (**Amos et al., 2014**).

Trois souches d'*Enterobacter sp* sont isolées des eaux d'Oued Soummam prélevées. Les souches résistent à la plus part des β -lactamines, un taux de 100% à été observé vis-à-vis de la FOX et l'IMP. Les souches d'*Enterobacter sp* résistent aussi aux autres familles d'antibiotiques, cependant l'AK semble la molécule la plus efficace du fait que les souches d'*Enterobacter sp* sont toutes sensibles a cette molécule. 2/3 des souches présentent une image de synergie, ce qui indique que la résistance aux β -lactamines de ces souches est probablement due à la production d'une BLSE associée à la production de son AmpC. Effectivement, la résistance d'*Enterobacter sp* aux C3G est le plus souvent causé par une production de β -lactamases de type AmpC (**David et Paterson, 2006**).

18 souches de *Acinetobacter spp* ont été isolées, la plupart d'entre elles sont résistantes à toute les molécules d'antibiotiques testées et nous avons obtenu un taux de production de BLSE de 20,45%. La résistance naturelle aux β -lactamines chez *Acinetobacter spp* est due à la production d'une β -lactamase chromosomique constitutive de classe C (AmpC). (**Sougakoff et Trystram, 2003**).

Nous avons isolé 2 souches de *Pseudomonas spp* qui sont résistantes à la plupart des antibiotique de la famille des β -lactamines testées : AMX, CTX, CX, ATM et ETP et à d'autre famille d'antibiotique tel que TE et CIP. Mais aucune image de synergie n'a été observée lors des DD-tests réalisés sur les souches. *Pseudomonas spp* est naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques, cela est dû à la production d'une β -lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération. Sa résistance acquise à la plupart des antibiotiques est due à des mutations conduisant à une hyperexpression de la β -lactamase chromosomique de classe C et surtout à une diminution de la perméabilité membranaire (**Sougakoff et Trystram, 2003**).

Conclusion

Dans la présente étude qui s'est déroulée au laboratoire Microbiologie de l'université A.Mira de Bejaïa, nous avons étudié les phénotypes de résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif isolés d'eau d'Oued Soummam de la wilaya de Bejaïa.

Sur les 32 prélèvements effectués, 100 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées, parmi lesquelles 80 souches sont des entérobactéries, répartie comme suite : 49 souches d'*E.coli*, 18 souches de *Citrobacter fennii*, 05 souches de *K.pneumoniae*, 03 souches *K.oxytoca*, 03 souches d'*Enterobacter sp*, et 02 souche de *Plesiomonas*. Tandis que les 20 souches restantes, elles sont identifiées comme étant des bacilles à Gram négatif autre que les entérobactéries où 18 souches étaient des *Acinetobacter spp* et 02 souches de *Pseudomonas spp*.

Les résultats des DD-tests montrent que 44/100 souches sont productrices de BLSE. *E.coli* est la plus majoritaire avec 23 sur les 44 souches productrice de β -lactamase à spectre étendu (BLSE). La présence répandue de pathogène *E.coli* dans l'eau de l'environnement souligne la nécessité cruciale d'améliorer la gestion des déchets dans la zone pour la protection de la santé humaine et à l'égard de la gestion de la propagation de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement. 10/11 souches testées résistantes à l'IMP et l'ETP sont productrices de carbapénèmase.

La propagation de BLSE et carbapénèmases dans les eaux de surface en particulier dans les rivières est très inquiétante car cela peut causer un déséquilibre écologique menant à la dominance des bactéries résistantes et à la perturbation globale des écosystèmes posant ainsi un grand risque pour la santé humaine. De ce fait, des mesures appropriées doivent de toute urgence être appliquées afin de réduire la charge anthropique de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement aquatique, tels que l'utilisation judicieuse des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire ainsi que dans l'agriculture.

Les résultats obtenus au cours de notre étude sont préliminaires et leur impact sur la santé publique est peu claire cela mérite d'être complété par des études complémentaires :

- Détermination de l'évolution de la contamination des eaux de surfaces dans le temps.
- L'élargissement de l'étude sur toute la flore environnementale pour inclure les bactéries Gram positif et la flore autochtone.
- Estimer le taux des résidus d'antibiotiques se trouvant dans ces eaux.

- La réalisation d'autres tests phénotypiques : DD-test à la cloxacilline, Hodge test, test à l'EDTA et la Conjugaison.
- Elargir la gamme d'antibiotique à tester.
- La détermination des mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques par des techniques de biologie moléculaire.
- Effectuer une étude à l'échelle nationale pour déterminer l'impact global de rejets des effluents hospitaliers, les déchets des usines de traitement des eaux usées (STEP), les déchets d'agriculture, déchets d'élevage et ceux de l'aquaculture dans l'environnement hydrique national.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Allen HK, Donato J, Huimi Wang H, Karen A, Cloud-Hansen KA, Davies J and Handelsman J. (2010). Call of wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Microbiology*.8: 251-259.

Alouache S, Kada M, Messai Y, Estepa V, Torres C and Bakour R. (2012). Résistance aux antibiotiques et à spectre étendu des bêta-lactamases à des bactéries isolées à partir de l'eau de mer des plages d'Alger (Algérie). *Microbiology Environment*. 27(1): 80-86.

Amador PP, Fernandes RM, Prudêncio MC, Barreto MP and Duarte IM. (2015). La résistance aux antibiotiques dans les eaux usées: présence et le sort des producteurs entérobactéries de classe A et de classe C β -lactamases. *Environnement Science Santé*. 50(1): 26-39.

Amos GCA, Hawkey PM, Gaze WH and Wellington EM. (2014). Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment. *Antimicrobial Chemother*. 69(7): 1785–1791.

Ash RJ, Mauck B and Morgan M. (2002). Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Rivers, United States. *Emergence Infection Diseases*. 8(7): 713–716.

Aubron C, Porel L, Ash RJ and Nordmann P. (2005). Entérobactéries productrices de carbapénèmase, rivières des États-Unis. *Emergence Infecter Diseases*. 11: 260-264.

B

Bakour Sofiane, Olaitan Abiola Olumuyiwa, Ammari Houria, Touati Abdelaziz, Saoudi Souad, Saoudi Kenza, and Rolain Jean-Marc. (2015). Emergence of Colistin- and Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report. *Microbial Drug Resistance*. 21(3): 279-285.

Références bibliographiques

Baquero F, Martinez JL and Canto R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*. 19: 260–265. Belouni R, Benslimani A,

Ramdani, Bouguessa N and Seghir M. (2009). *Manuel de Microbiologie*. 2ème Ed. OPU, Alger. P 91.

Benhamiche N. (1997). Modélisation de la relation pluie-relief en vue de la cartographie par Krigeage : cas du bassin versant de la Soummam. Thèse de magistère en Sciences agronomiques, hydrologie, Institut national agronomique ElHarrach (Alger), 180 p.

Blaak H, van Hoek AH, Veenman C, Docters van Leeuwen AE, Lynch G, van Overbeek WM and de RodaHusman AM. (2014). Extended spectrum β -lactamase- and constitutively AmpC-producing Enterobacteriaceae on fresh produce and in the agricultural environment. *Food Microbiology*. 168-169:8-16.



CA-SFM-EUCAST. (2015). Comité de L'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

Chen B, Zheng W, Yu Y, Huang W, Zheng S, Zhang Y and al. (2011). intégrons de classe 1, les gènes de virulence sélectionnés et la résistance aux antibiotiques dans *Escherichia coli* isolé de la rivière Minjiang, province du Fujian, en Chine. *Applied Environment Microbiology*. 77, 148-155.

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

Conseil national de recherches et du Comité sur les indicateurs pour les pathogènes d'origine hydrique. (2004). Indicateurs pour les agents pathogènes d'origine hydrique. National Academies Press, Washington, DC.

Corvaglia AR. (2006). Role des résidus d'antibiotiques dans l'environnement hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres "*Aeromonas*", "*Acinetobacter*" et "*Legionella*". Thèse de doctorat. Université de Genève. Faculté des sciences. Département de botanique et de biologie végétale. 264P.

Références bibliographiques



Courvalin P. (2012). « Résistance aux antibiotiques : une impasse thérapeutique ? Implications nationales et internationales » .École Val de Grâce, Paris. P1. David L and Paterson MD. (2006). Resistance in Gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. The American Journal of infectioncontrol. 34, P 20-28.

De Champs C, Henquell C, Guelon D, Sirot D, Gazuy N and Sirot J. (1993). Etude clinique et bactériologique des infections nosocomiales dues à *Enterobacteraerogenes* résistante à l'imipénème. Journal ClinicalMicrobiology. 31: 123-7.

Delarras C and Trébaol B. (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation, prélèvements, analyses. Edition Technology et Document EMinter. Londres-Paris-New York. 48-51p.

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



Elmanama A, Elkichaoui Y and Mai Mohsin M. (2006). Contribution of hospital wastewater to the spread of antibiotic resistance in comparison to non-health institution. Journal of al-Aqsa University. 10, 108-121.



Falagas ME and Karageorgopoulos DE. (2009). Extended spectrum β -lactamase producing organism. Journal Hospital Infection. 1-10.

Références bibliographiques



Garcia N, Moreno J, Cartmell E, Rodriguez-Roda I and Judd S. (2013). The application of microfiltration-reverse osmosis/nanofiltration to trace organics removal for municipal wastewater reuse. *Environmental Technology*. 34(24): 3183-3189.

Gateau C. (2012). Etude génétique de l'adaptation microbienne au moyen de nouvelles méthodes de séquençage. Thèse pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études. École Pratique des Hautes Études, Paris, 11P.

Ghadbane N. (2003). Les eaux usées urbaines. Mémoire de Magistère, université Mohamed Boudiaf M'sila. p. 147.

Girlich D, Poirel L and Nordmann P. (2010). Roman Classe Ambler A β -lactamase of carbapenemshydrolyse in *Pseudomonas fluorescens* isolats from Seine, Paris, France. *Antimicrobial Agents Chemother*. 54: 328-332.

Guardabassi L, Petersen A, Olsen J and Dalsgaard A. (1998). Antibiotic Resistance in *Acinetobacter* spp isolated from sewers receiving waste effluent from a Hospital and a pharmaceutical plant. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 64, N° 9. P. 3499-3502.

Guillemot D. (2005). Consommation d'antibiotiques et résistance des bactéries. Pour la Science N°331.



Habi S and Daba H. (2009). Plasmid incidence, antibiotic and metal resistance among enterobacteriaceae isolated from Algerian streams. *Environmental Pollution*. 174, P 85-92.

Holder-Franklin MA, Thorpe A and Wuest L. (1992). Evaluation of tests employed in the numerical taxonomy of river bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. 15, P 263-277.

Références bibliographiques

I

Isozumi R, Yoshimatsu K, Yamashiro T, Hasebe F, Nguyen BM, Cuong Ngo T, Yasuda SP, Koma T, Shimisu K and Arikawa J. (2012). bla_{NDM-1}-positive *Klebsiella pneumoniae* from environment, Vietnam. Emerging Infectious Diseases. www.cdc.gov/eid. Vol. 18, No. 8, 1383-1384.

J

Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G and Philippon A. (1988). Extended broad spectrum β -lactamase conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in enterobacteriaceae. Hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev infection diseases. 10, P867-878.

K

Kemper N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. Ecological Indicators. 8(1): 1–13.

L

Lapara TM, Firl SJ, Onan LJ, Ghosh S, Yan T and Sadowsky MJ. (2006). Municipale de traitement des eaux usées : la possibilité de ralentir la prolifération des bactéries résistantes aux antibiotiques? ARUC Reporter. 36 : 18-23.

Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D and Petit F. (2009). Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli* isolated from a densely populated estuary (Seine, France). Microbiology Ecology. 68(1):118-30.

Laurence DR and Jarlier V. (2014). Bactéries multirésistantes dans l'eau : modèles des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu. Revue francophone des laboratoires N°460.

Références bibliographiques

Lavigne JP, Sotto A, Merle C, Jourdan J and Sirot D. (2002). Résistance enzymatique d'*Escherichiacoli* aux β -lactamines et prévalence en clinique. *Pathologie Biologie*. 50 : 388-393.

Lee EH, Nicolas MH, Kitzis MD, Pialoux G, Collatz E and Gutmann L. (1991). Association de deux mécanismes de résistance dans un isolat clinique de *Enterobactercloacae* avec haut niveau de résistance à l'imipénème. *Antimicrob. Agents Chemother*. 35 : 1093-8.

Lu SY, Zhang YL, Geng SN, Li TY, Ye ZM, Zhang DS, Zou F and Zhou HW. (2010). High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. *Environment Microbiology*. 76(17): 5972-6.

Lupo A, Coyne S and Berendonk TU. (2012). Origin and Evolution of Antibiotic Resistance: The Common Mechanisms of Emergence and Spread in Water Bodies. *Microbiology*. 18 : 1-13.



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

Martinez JL. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*. 157: 2893–2902.

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



Nikolaou Nu, Méric S and Fatta D. (2007). Modèles de présence de produits pharmaceutiques dans des environnements d'eau et d'eaux usées. *Analytique et Chimie bioanalytique*. 387(4) : 1225-1234.

Références bibliographiques

P

Poirel L, Potron A and Nordmann P. (2012). OXA-48 comme carbapénémase: La menace fantôme. *Journal Antimicrobial Chemother.* 67 : 1597-1606.

R

Ronald J Ash, Mauck B and Morgan M. (2002). Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Rivers, United States. *Emergence Infection Diseases.* 8(7): 713–716.

S

Seck R. (2005). Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'infections urinaires. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Antadiop de Dakar, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie. Département de Pharmacie. 73p.

Sevrais P and Passerat J. (2009). Antimicrobial resistance of fecal bacteria in water of the Seine river watershed (France). *Science of the total environment.* 408, P365-372.

Sougakoff W and Trystram D. (2003). Résistance aux β -lactamines. Faculté de Médecine, université de Pierre et Marie curie. P. 7 et 51.

Subha A and Ananthan S. (2002). Extended spectrum beta lactamase (ESBL) mediated resistance to third generation cephalosporins among *klebsiella pneumoniae* in Chennai. *Department of Microbiology.* 20(2):92-95.

T

Tacao M, Correia A and Henriques I. (2012). La résistance aux antibiotiques à large spectre dans les systèmes aquatiques: activités anthropiques modulent la diffusion de *bla*_{CTX-M} - comme gènes. *Applied Environment Microbiology.* 78 : 4134-4140.

Références bibliographiques

Ternent L, Dyson RJ, Krachler AN and Jabbari S. (2015). La forme physique bactérienne forme la dynamique de la population de résistant aux antibiotiques et les bactéries susceptibles dans un modèle de traitement combiné d'antibiotique et d'anti-virulence. *Journal de Biologie Théorique*. 372, 1-11.

V

Visitery and Gauff. (1987). Etude d'approvisionnement en eau potable et industrielle des agglomérations du couloir AKBOU-BEJAIA à partir du Barrage Tichi-Haf, rapport de synthèse de la collecte des données.

W

Walsh TR, Weeks J, Livermore DM and Toleman MA. (2011). Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. 11(5):355-62.

Y

Yala D, Merad AS, Mohamedi D and Ouar Korich MN. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. N°91.

Z

Zurfluh K, Hächler H, Nüesch-Inderbinen M and Stephan R. (2013). Characteristics of Extended-Spectrum β -Lactamase- and Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Isolates from Rivers and Lakes in Switzerland. *Environment Microbiology*. 79(9): 3021–3026.

Annexes

Annexe I

Tableau d'identification des souches par des tests biochimiques.

| | Glucose | Lactose | Gaz | H2S | Indole à 37°C | Indole à 44°C | Uréase | TDA | VP | RM | NR | C.S | Man | Mobilité |
|--------------------------|----------------|----------------|------------|------------|----------------------|----------------------|---------------|------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|-----------------|
| <i>E coli</i> | + | + | + | - | + | + | - | - | - | + | + | - | + | + |
| <i>C.freundii</i> | + | + | - | + | - | - | - | - | - | + | + | d | + | + |
| <i>K. pneumoniae</i> | + | + | + | - | - | - | + | - | + | - | + | + | + | - |
| <i>K.oxytoca</i> | + | + | + | - | + | - | + | - | + | - | + | + | + | - |
| <i>Enterobacter sp</i> | + | + | + | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + | + |
| <i>Plesiomonas sp</i> | + | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | - | + | + |
| <i>Acinetobacter spp</i> | - | - | - | - | - | - | d | - | - | - | + | - | - | - |
| <i>Pseudomonas spp</i> | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | - | + |

d : variable.

Annexe II

Charge et diamètres des antibiotiques testés.

| Antibiotiques | Diamètres critiques | | | | | | | | |
|---------------|---------------------------|------|-----------|---------------------------|------|-----------|------------------------|------|-----------|
| | <i>Enterobacteriaceae</i> | | | <i>Acinetobacter spp.</i> | | | <i>Pseudomonas spp</i> | | |
| | Sensibilité | | Charge | Sensibilité | | Charge | Sensibilité | | Charge |
| AMC | ≥ 16 | <16 | 20_10 | ≥ 16 | <16 | 20_10 | ≥ 16 | <16 | 20_10 |
| CX | ≥15 | <19 | 30 | ≥15 | <19 | 30 | ≥15 | <19 | 30 |
| CTX | ≥20 | <17 | 5 | ≥ 23 | <15 | 30 | ≥20 | <17 | 5 |
| CAZ | ≥22 | <17 | 10 | ≥18 | <15 | 10 | ≥16 | <16 | 10 |
| FFP | ≥ 24 | <21 | 30 | ≥ 18 | <15 | 30 | ≥19 | <19 | 30 |
| AT | ≥ 24 | <21 | 30 | ≥24 | <21 | 30 | ≥50 | <16 | 30 |
| IMP | ≥ 22 | < 16 | 10 | ≥ 23 | < 17 | 10 | ≥ 23 | < 17 | 10 |
| ETP | ≥ 25 | < 22 | 10 | ≥ 25 | < 22 | 10 | ≥ 25 | < 22 | 10 |
| TE | ≥ 15 | <12 | 30 | ≥ 15 | <12 | 30 | ≥ 15 | <12 | 30 |
| CN | ≥ 17 | < 14 | 10 | ≥ 17 | < 17 | 10 | ≥ 15 | < 15 | 10 |
| CIP | ≥ 22 | < 19 | 5 | ≥ 21 | <21 | 5 | ≥ 25 | <22 | 5 |
| AK | ≥ 16 | < 13 | 30 | ≥ 18 | < 15 | 30 | ≥ 18 | < 15 | 30 |

Annexe III

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 1^{ier} prélèvement aux β -lactamines.

| Code de la souche | AMC | CX | CTX | CAZ | FEP | AT | IMP | ETP | S _y | Espèces | | | | | | | | |
|---------------------------|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----------------|---------|----|---|----|---|----|---|---|------------------------|
| <i>Enterobacteriaceae</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AS.1 | 6 | R | 16 | I | 12 | R | 10 | R | 20 | R | 20 | R | 20 | I | 21 | R | + | <i>E.coli</i> |
| AS.2 | 14 | R | 16 | I | 23 | S | 14 | R | 38 | S | 28 | S | 36 | S | 32 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.3 | 6 | R | 6 | R | 14 | R | 6 | R | 26 | S | 16 | R | 25 | S | 28 | S | + | <i>C.freundii</i> |
| AS.4 | 12 | R | 20 | S | 14 | R | 14 | R | 16 | R | 16 | R | 30 | S | 28 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.5 | 6 | R | 17 | I | 8 | R | 6 | R | 10 | R | 8 | R | 26 | S | 24 | I | - | <i>K.pneumoniae</i> |
| AS.6 | 6 | R | 16 | I | / | / | 6 | R | 11 | R | 6 | R | 28 | S | 24 | I | - | <i>K.oxytoca</i> |
| AS.7 | 6 | R | 18 | I | 6 | R | 8 | R | 10 | R | 10 | R | 28 | S | 29 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.8 | 11 | R | 20 | S | 16 | R | 6 | R | 20 | R | 22 | I | 24 | S | 24 | I | + | <i>E.coli</i> |
| AS.9 | 16 | S | 21 | S | / | / | 6 | R | 13 | R | 9 | R | 28 | S | 28 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.10 | 10 | R | 18 | I | 14 | R | 19 | I | 15 | R | 16 | R | 32 | S | 32 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.11 | 6 | R | 6 | R | 10 | R | 6 | R | 24 | S | 15 | R | 25 | S | 19 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.12 | 6 | R | 17 | I | / | / | 6 | R | 12 | R | 8 | R | 29 | S | 28 | S | - | <i>E.coli</i> |
| AS.13 | 6 | R | 22 | S | / | / | 6 | R | 16 | R | 12 | R | 28 | S | 26 | S | - | <i>E.coli</i> |
| AS.14 | 8 | R | 18 | I | 8 | R | 14 | R | 14 | R | 16 | R | 32 | S | 28 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.15 | 8 | R | 21 | S | 14 | R | 15 | R | 17 | R | 16 | R | 31 | S | 32 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.16 | 8 | R | 6 | R | 21 | S | 12 | R | 30 | S | 24 | S | 33 | S | 36 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.17 | 6 | R | 11 | R | 15 | R | 10 | R | 25 | S | 27 | S | 30 | S | 30 | S | + | <i>Plesiomonas sp</i> |
| AS.18 | 8 | R | 19 | S | 10 | R | 10 | R | 15 | R | 14 | R | 30 | S | 26 | S | + | <i>K.pneumoniae</i> |
| AS.19 | 12 | R | 20 | S | 9 | R | 13 | R | 15 | R | 15 | R | 30 | S | 30 | S | + | <i>Enterobacter sp</i> |
| AS.20 | 6 | R | 21 | S | 12 | R | 11 | R | 14 | R | 15 | R | 29 | S | 30 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.21 | 6 | R | 21 | S | 12 | R | 12 | R | 16 | R | 16 | R | 29 | S | 29 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.22 | 6 | R | 6 | R | / | / | 6 | R | 23 | I | 10 | R | 27 | S | 28 | S | - | <i>E.coli</i> |
| AS.23 | 6 | R | 18 | I | 10 | R | 6 | R | 16 | R | 10 | R | 29 | S | 28 | S | - | <i>E.coli</i> |
| AS.24 | 20 | S | 6 | R | 24 | S | 26 | S | 17 | R | 11 | R | 23 | S | 30 | S | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.25 | 6 | R | 19 | S | 10 | R | 11 | R | 12 | R | 15 | R | 28 | S | 28 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.26 | 6 | R | 16 | I | / | / | 6 | R | 10 | R | 6 | R | 27 | S | 24 | I | - | <i>K.pneumoniae</i> |
| AS.27 | 18 | S | 6 | R | 6 | R | 19 | I | 30 | S | 15 | R | 23 | S | 30 | S | + | <i>C.freundii</i> |
| AS.28 | 6 | R | 20 | S | 14 | R | 12 | R | 15 | R | 16 | R | 30 | S | 30 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.29 | 6 | R | 22 | S | 8 | R | 8 | R | 11 | R | 11 | R | 30 | S | 29 | S | + | <i>K.pneumoniae</i> |
| AS.30 | 6 | R | 23 | S | 14 | R | 13 | R | 15 | R | 16 | R | 30 | S | 35 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.31 | / | / | 21 | S | 6 | R | 6 | R | 16 | R | 6 | R | 33 | S | 34 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.32 | 32 | S | 6 | R | 8 | R | 8 | R | 10 | R | 12 | R | 30 | S | 28 | S | + | <i>C.freundii</i> |
| AS.33 | 15 | R | 6 | R | 21 | S | 18 | I | 21 | I | 25 | S | 30 | S | 29 | S | + | <i>Enterobacter sp</i> |
| AS.34 | 7 | R | 19 | S | 6 | R | 6 | R | 10 | R | 6 | R | 30 | S | 28 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.35 | 19 | S | 23 | S | 6 | R | 16 | R | 15 | R | 20 | R | 28 | S | 30 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.36 | 6 | R | 20 | S | 6 | R | 12 | R | 15 | R | 15 | R | 30 | S | 30 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.37 | 6 | R | 6 | R | 6 | R | 10 | R | 23 | I | 20 | R | 29 | S | 30 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.38 | 6 | R | 6 | R | 6 | R | 11 | R | 23 | I | 6 | R | 29 | S | 30 | S | + | <i>Plesiomonas sp</i> |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|---|------------------|
| AS.39 | 6 | R | 19 | S | / | / | 6 | R | 16 | R | 6 | R | 26 | S | 26 | S | - | <i>C.freudii</i> |
| AS.40 | 19 | S | 20 | S | 12 | R | 12 | R | 17 | R | 15 | R | 32 | S | 32 | S | + | <i>E.coli</i> |
| AS.41 | 23 | S | 21 | S | 11 | R | 10 | R | 16 | R | 14 | R | 30 | S | 32 | S | + | <i>E.coli</i> |
| <i>Acinetobacter</i> spp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AS.42 | 14 | R | 14 | I | 22 | I | 16 | I | 14 | R | 14 | R | 28 | S | 22 | I | | + |
| AS.43 | 10 | R | 7 | R | 19 | I | 10 | R | 16 | I | 13 | R | 30 | S | 18 | R | | + |
| AS.44 | 14 | R | 7 | R | 17 | I | 16 | I | 17 | I | 15 | R | 32 | S | 18 | R | | + |
| AS.45 | 14 | R | 16 | I | 30 | S | 20 | S | 26 | S | 20 | R | 34 | S | 23 | I | | - |
| AS.46 | 22 | S | 16 | I | 21 | I | 15 | I | 19 | S | 10 | R | 32 | S | 23 | I | | + |
| AS.47 | 11 | R | 6 | R | 6 | R | 11 | R | 24 | S | 6 | R | 28 | S | 20 | R | | - |
| AS.48 | 12 | R | 20 | S | / | / | 6 | R | 26 | S | 15 | R | 24 | S | 21 | R | | - |
| AS.49 | 24 | S | 22 | S | 24 | S | 14 | R | 15 | I | 15 | R | 17 | I | 22 | I | | + |
| AS.50 | 14 | R | 6 | R | 22 | I | 21 | S | 21 | S | 20 | R | 33 | S | 17 | R | | + |
| AS.51 | 10 | R | 6 | R | 6 | R | 13 | R | 23 | S | 6 | R | 34 | S | 20 | R | | + |

Sy: Synergie

Annexe IV

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 2^{ème} prélèvement aux β -lactamines.

| Code des souches | AMC | | CX | | CTX | | CAZ | | FEP | | AT | | IMP | | ETP | | Sy | Espèces |
|---------------------------|-----|---|----|---|-----|---|-----|---|-----|---|----|---|-----|---|-----|---|----|---------------------|
| <i>Enterobacteriaceae</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AS.52 | 6 | R | 24 | S | 26 | S | 29 | S | 29 | S | 31 | S | 19 | I | 17 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.53 | 6 | R | 6 | R | / | / | 6 | R | 24 | S | 15 | R | 32 | S | 15 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.54 | 6 | R | 26 | S | 29 | S | 8 | R | 31 | S | 27 | S | 27 | S | 20 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.55 | 6 | R | 6 | R | 24 | S | 24 | S | 28 | S | 27 | S | 19 | I | 17 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.56 | 6 | R | 25 | S | 30 | S | 25 | S | 30 | S | 28 | S | 26 | S | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.57 | 6 | R | 20 | S | 22 | S | 24 | S | 23 | S | 27 | S | 22 | S | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.58 | 6 | R | 28 | S | 10 | R | 21 | S | 14 | R | 25 | S | 23 | S | 6 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.59 | 11 | R | 6 | R | 13 | R | 17 | I | 17 | R | 21 | I | 40 | S | 6 | R | - | <i>K.pneumoniae</i> |
| AS.60 | 6 | R | 21 | S | 22 | S | 26 | S | 27 | S | 28 | S | 19 | I | 16 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.61 | 7 | R | 31 | S | 36 | S | 30 | S | 36 | S | 32 | S | 29 | S | 24 | I | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.62 | 12 | R | 13 | R | 24 | S | 26 | S | 31 | S | 31 | S | 32 | S | 17 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.63 | 6 | R | 20 | S | 26 | S | 25 | S | 28 | S | 26 | S | 18 | I | 16 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.64 | 6 | R | 22 | S | 25 | S | 26 | S | 29 | S | 27 | S | 21 | I | 14 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.65 | 19 | S | 30 | S | 23 | S | 10 | R | 29 | S | 26 | S | 31 | S | 21 | R | + | <i>C.freundii</i> |
| AS.66 | 6 | R | 21 | S | 30 | S | 21 | S | 26 | S | 26 | S | 16 | I | 13 | R | + | <i>K.oxytoca</i> |
| AS.67 | / | / | 24 | S | 22 | S | 38 | S | 40 | S | 42 | S | 28 | S | 22 | I | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.68 | 6 | R | 20 | S | 23 | S | 26 | S | 25 | S | 29 | S | 20 | I | 16 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.69 | 39 | S | 30 | S | 30 | S | 28 | S | 27 | S | 30 | S | 27 | S | 6 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.70 | 6 | R | 19 | S | 23 | S | 23 | S | 24 | S | 25 | S | 19 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.71 | 6 | R | 21 | S | 21 | S | 25 | S | 26 | S | 26 | S | 21 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.72 | 6 | R | 20 | S | 25 | S | 25 | S | 26 | S | 27 | S | 22 | S | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.73 | 6 | R | 21 | S | 24 | S | 26 | S | 29 | S | 29 | S | 22 | S | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.74 | 6 | R | 21 | S | 23 | S | 24 | S | 26 | S | 26 | S | 18 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.75 | 26 | S | 12 | R | 17 | I | 17 | I | 22 | I | 20 | R | 34 | S | 6 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.76 | 6 | R | 10 | R | 6 | R | 10 | R | 9 | R | 14 | R | 17 | I | 6 | R | - | <i>K.oxytoca</i> |
| AS.77 | 6 | R | 21 | S | 23 | S | 24 | S | 26 | S | 27 | S | 19 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.78 | 6 | R | 6 | R | / | / | 6 | R | 28 | S | 16 | R | 17 | I | 14 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.79 | 15 | R | 12 | R | / | / | 6 | R | 30 | S | 25 | S | 22 | S | 23 | I | + | <i>E.coli</i> |
| AS.80 | 6 | R | 17 | I | 20 | S | 6 | R | 26 | S | 20 | R | 19 | I | 16 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.81 | 6 | R | 15 | I | / | / | 6 | R | 11 | R | 17 | R | 17 | I | 14 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.82 | 6 | R | 7 | R | 6 | R | 6 | R | 11 | R | 7 | R | 21 | I | 10 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.83 | 6 | R | 21 | S | 24 | S | 27 | S | 26 | S | 28 | S | 14 | R | 6 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.84 | 6 | R | 6 | R | 18 | I | 21 | I | 23 | I | 24 | S | 18 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.85 | 20 | S | 30 | S | 20 | S | 14 | R | 26 | S | 18 | R | 32 | S | 6 | R | + | <i>C.freundii</i> |
| AS.86 | 6 | R | 6 | R | 20 | S | 22 | S | 24 | S | 24 | S | 20 | I | 6 | R | - | <i>C.freundii</i> |
| AS.87 | 6 | R | 6 | R | 6 | R | 9 | R | 8 | R | 15 | R | 16 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.88 | 6 | R | 7 | R | 6 | R | 9 | R | 8 | R | 15 | R | 18 | I | 6 | R | - | <i>E.coli</i> |
| AS.89 | 6 | R | 20 | S | 24 | S | 26 | S | 26 | S | 28 | S | 17 | I | 15 | R | - | <i>C.freundii</i> |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|----|----------|----|----------|-----------|----------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|----|----------|---|------------------------|
| AS.90 | 12 | R | 20 | S | 33 | S | 28 | S | 31 | S | 30 | S | 23 | S | 6 | R | - | <i>Enterobacter sp</i> |
| <i>Pseudomonas spp</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AS.91 | 6 | R | 6 | R | 12 | R | 23 | S | 23 | S | 27 | R | 28 | S | 6 | R | | - |
| AS.92 | 8 | R | 6 | R | 11 | R | 21 | S | 21 | S | 26 | R | 26 | S | 6 | R | | - |
| <i>Acinetobacter spp.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AS.93 | 17 | S | 16 | I | 24 | S | 32 | S | 30 | S | 36 | S | 40 | S | 6 | R | | - |
| AS.94 | / | / | 14 | R | 24 | S | 32 | S | 32 | S | 36 | S | 36 | S | 23 | I | | - |
| AS.95 | / | / | 15 | I | 22 | I | 28 | S | 35 | S | 30 | S | 28 | S | 17 | R | | - |
| AS.96 | 26 | S | 11 | R | 20 | I | 15 | I | 25 | S | 20 | R | 39 | S | 16 | R | | + |
| AS.97 | 12 | R | 29 | S | 36 | S | 6 | R | 39 | S | 30 | S | 19 | I | 21 | R | | - |
| AS.98 | 27 | S | 15 | I | 20 | I | 17 | I | 24 | S | 21 | I | 36 | S | 6 | R | | + |
| AS.99 | 10 | R | 34 | S | / | / | 8 | R | 36 | S | 30 | S | 30 | S | 22 | I | | - |
| AS.100 | 22 | S | 15 | I | 21 | I | 30 | S | 30 | S | 34 | S | 40 | S | 6 | R | | - |

Sy: Synergie.

Annexe V

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 1^{ier} prélèvement aux antibiotiques autre que les β -lactamines.

| Code de la souche | TE | | CN | | CIP | | AK | |
|---------------------------|----|---|----|---|-----|---|----|---|
| <i>Enterobacteriaceae</i> | | | | | | | | |
| AS.1 | 11 | R | 20 | S | 21 | I | 17 | S |
| AS.2 | 26 | S | 20 | S | 38 | S | 28 | S |
| AS.3 | 26 | S | 28 | S | 32 | S | 28 | S |
| AS.4 | 6 | R | 12 | R | 9 | R | 26 | S |
| AS.5 | 6 | R | 9 | R | 26 | S | 22 | S |
| AS.7 | 6 | R | 8 | R | 30 | S | 23 | S |
| AS.9 | 6 | R | 10 | R | 6 | R | 20 | S |
| AS.10 | 12 | I | 23 | S | 24 | S | 26 | S |
| AS.11 | 6 | R | 24 | S | 26 | S | 20 | S |
| AS.12 | 6 | R | 25 | S | 7 | R | 26 | S |
| AS.13 | 20 | S | 6 | R | 26 | S | 23 | S |
| AS.14 | 6 | R | 21 | S | 6 | R | 17 | S |
| AS.15 | 6 | R | 9 | R | 30 | S | 17 | S |
| AS.16 | 6 | R | 24 | S | 26 | S | 26 | S |
| AS.17 | 6 | R | 24 | S | 26 | S | 25 | S |
| AS.18 | 6 | R | 30 | S | 21 | I | 29 | S |
| AS.19 | 21 | S | 22 | S | 34 | S | 25 | S |
| AS.20 | 20 | S | 24 | S | 32 | S | 25 | S |
| AS.21 | 6 | R | 11 | R | 8 | R | 24 | S |
| AS.22 | 9 | R | 6 | R | 6 | R | 20 | S |
| AS.23 | 6 | R | 6 | R | 6 | R | 20 | S |
| AS.24 | 18 | S | 21 | S | 23 | S | 22 | S |
| AS.25 | 6 | R | 20 | S | 6 | R | 16 | S |
| AS.26 | 24 | S | 24 | S | 24 | S | 12 | R |
| AS.27 | 6 | R | 7 | R | 6 | R | 20 | S |
| AS.28 | 16 | S | 6 | R | 28 | S | 14 | I |
| AS.29 | 26 | S | 23 | S | 23 | S | 23 | S |
| AS.30 | 6 | R | 6 | R | 25 | S | 23 | S |
| AS.31 | 22 | S | 6 | R | 33 | S | 18 | S |
| AS.32 | 6 | R | 7 | R | 17 | R | 20 | S |
| AS.33 | 6 | R | 25 | S | 6 | R | 27 | S |
| AS.34 | 21 | S | 6 | R | 32 | S | 16 | S |
| AS.35 | 22 | S | 11 | R | 6 | R | 22 | S |
| AS.36 | 6 | R | 6 | R | 6 | R | 6 | R |
| AS.37 | 6 | R | 6 | R | 22 | S | 22 | S |
| AS.38 | 20 | S | 6 | R | 6 | R | 21 | S |
| AS.39 | 6 | R | 6 | R | 15 | R | 24 | S |
| AS.40 | 6 | R | 6 | R | 15 | R | 24 | S |
| AS.41 | 6 | R | 26 | S | 25 | S | 28 | S |

| | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| AS.42 | 10 | R | 6 | R | 8 | R | 23 | S |
| AS.43 | 6 | R | 6 | R | 8 | R | 23 | S |
| <i>Acinetobacter spp.</i> | | | | | | | | |
| AS.44 | 6 | R | 20 | S | 30 | S | 24 | S |
| AS.45 | 18 | S | 20 | S | 32 | S | 26 | S |
| AS.46 | 18 | S | 24 | S | 28 | S | 26 | S |
| AS.47 | 20 | S | 24 | S | 38 | S | 24 | S |
| AS.46 | 22 | S | 26 | S | 34 | S | 26 | S |
| AS.47 | 23 | S | 26 | S | 34 | S | 26 | S |
| AS.48 | 27 | S | 28 | S | 44 | S | 28 | S |
| AS.49 | 25 | S | 17 | S | 36 | S | 24 | S |
| AS.50 | 20 | S | 6 | R | 33 | S | 30 | S |
| AS.51 | 21 | S | 24 | S | 34 | S | 29 | S |

Annexe VI

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatif isolées à partir du 2^{ème} prélèvement aux antibiotiques autre que les β -lactamines.

| Code de la souche | TE | | CN | | CIP | | AK | |
|---------------------------|----|---|----|---|-----|---|----|---|
| <i>Enterobacteriaceae</i> | | | | | | | | |
| AS.52 | 23 | S | 26 | S | 40 | S | 24 | S |
| AS.53 | / | / | 17 | S | 30 | S | 30 | S |
| AS.54 | 21 | S | 32 | S | 27 | S | 31 | S |
| AS.55 | 7 | R | 24 | S | 21 | I | 22 | S |
| AS.56 | 26 | S | 28 | S | 42 | S | 26 | S |
| AS.57 | 24 | S | 26 | S | 34 | S | 24 | S |
| AS.58 | 28 | S | 32 | S | 28 | S | 32 | S |
| AS.59 | 21 | S | 24 | S | 30 | S | 22 | S |
| AS.60 | 22 | S | 24 | S | 32 | S | 30 | S |
| AS.61 | 20 | S | 28 | S | 32 | S | 26 | S |
| AS.62 | 13 | I | 27 | S | 32 | S | 25 | S |
| AS.63 | 22 | S | 24 | S | 31 | S | 22 | S |
| AS.64 | 6 | R | 13 | R | 32 | S | 20 | S |
| AS.65 | 20 | S | 25 | S | 36 | S | 26 | S |
| AS.66 | 17 | S | 23 | S | 27 | S | 20 | S |
| AS.67 | 23 | S | 28 | S | 25 | S | 31 | S |
| AS.68 | 6 | R | 24 | S | 11 | R | 23 | S |
| AS.69 | 23 | S | 29 | S | 25 | S | 26 | S |
| AS.70 | 6 | R | 25 | S | 10 | R | 22 | S |
| AS.71 | 6 | R | 10 | R | 32 | S | 24 | S |
| AS.72 | 22 | S | 26 | S | 36 | S | 26 | S |
| AS.73 | 24 | S | 6 | R | 34 | S | 26 | S |
| AS.74 | 20 | S | 22 | S | 28 | S | 21 | S |
| AS.75 | 22 | S | 22 | S | 30 | S | 22 | S |
| AS.76 | 16 | S | 25 | S | 6 | R | 13 | I |
| AS.77 | 6 | R | 23 | S | 10 | R | 20 | S |
| AS.78 | 24 | S | 20 | S | 24 | S | 22 | S |
| AS.79 | 8 | R | 24 | S | 30 | S | 22 | S |
| AS.80 | 19 | S | 18 | S | 32 | S | 23 | S |
| AS.81 | 18 | S | 10 | R | 20 | R | 24 | S |
| AS.82 | 7 | R | 20 | S | 30 | S | 23 | S |
| AS.83 | 24 | S | 24 | S | 34 | S | 24 | S |
| AS.84 | 12 | I | 26 | S | 36 | S | 24 | S |
| AS.85 | 22 | S | 34 | S | 34 | S | 32 | S |
| AS.86 | 22 | S | 25 | S | 33 | S | 26 | S |
| AS.87 | 6 | R | 16 | I | 36 | S | 24 | S |
| AS.88 | 9 | R | 26 | S | 36 | S | 18 | S |
| AS.89 | 16 | S | 22 | S | 30 | S | 23 | S |
| AS.90 | 26 | S | 22 | S | 32 | S | 22 | S |

| <i>Pseudomonas spp</i> | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| AS.91 | 10 | R | 20 | S | 36 | S | 24 | S |
| AS.92 | 8 | R | 20 | S | 24 | I | 22 | S |
| <i>Acinetobacter spp.</i> | | | | | | | | |
| AS.93 | 6 | R | 26 | S | 26 | S | 6 | R |
| AS.94 | 26 | S | 28 | S | 30 | S | 29 | S |
| AS.95 | 20 | S | 30 | S | 23 | S | 25 | S |
| AS.96 | 23 | S | 32 | S | 30 | S | 33 | S |
| AS.97 | 27 | S | 30 | S | 30 | S | 31 | S |
| AS.98 | 6 | R | 27 | S | 30 | S | 26 | S |
| AS.99 | 24 | S | 30 | S | 38 | S | 28 | S |
| AS.100 | 36 | S | 32 | S | 26 | S | 34 | S |

Annexe VII

Composition des milieux de culture (g/l d'eau distillée)

Gélose Mac conkey (pH 7.4)

| | |
|---------------------------|-------|
| ❖ Peptone | 20 |
| ❖ Lactose | 10 |
| ❖ Sels biliaire | 0.072 |
| ❖ Chlorure de sodium..... | 05 |
| ❖ Agar | 12 |

Gélose Muller Hinton (pH 7.4)

| | |
|-------------------------------------|------|
| ❖ Infusion de viande de boeuf | 300 |
| ❖ Hydrolysate de caséine..... | 17.5 |
| ❖ Amidon..... | 1.5 |
| ❖ Agar | 17 |

Gélose TSI (pH 7)

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

Milieu Clark-lubs (pH 7)

| | |
|-----------------------------------|----|
| ❖ Peptone trypsine de viande..... | 05 |
| ❖ Phosphate bipotassique | 05 |
| ❖ Glucose..... | 06 |

Bouillon nutritif (pH 7.7)

| | |
|------------------------------|----|
| ❖ Macération de viande | 01 |
| ❖ Peptone trypsine | 15 |
| ❖ NaCl | 05 |

Bouillon nitraté (pH 7)

| | |
|--------------------------------|----|
| ❖ Infusion cerveau-coeur | 25 |
| ❖ Nitrate de potassium..... | 10 |

Milieu de citrate de Simmons (pH 7-7.2)

| | |
|---------------------------------|------|
| ❖ Citrate de sodium... .. | 02 |
| ❖ Chlorure de sodium... .. | 05 |
| ❖ Sulfate de magnésium..... | 0.2 |
| ❖ Phosphate monoammoniaque..... | 01 |
| ❖ Phosphate bipotassique..... | 01 |
| ❖ Bleu de bromothymol..... | 0.08 |
| ❖ Agar..... | 15 |

Mannitol mobilité (pH 7.6-7.8)

| | |
|-----------------------------------|-------|
| ❖ Peptone trypsine de viande..... | 02 |
| ❖ Agar..... | 04 |
| ❖ Mannitol..... | 02 |
| ❖ KNO ₃ | 01 |
| ❖ Rouge de phénol à 1%..... | 04 ml |

Annexe VIII

Réactifs utilisés

Réactif de Kovacs

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

Réactif de TDA

- ❖ Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$ 10ml
- ❖ Eau distillée..... 20ml

Rouge de méthyle

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

Réactif de voges-proskauer (VPI)

- ❖ α -naphthol..... 6g
- ❖ Alcool éthylique à 90%..... 100ml

Réactif de voges-proskauer (VPII)

- ❖ NaOH 4N

Réactif de Griess I (NRI)

- ❖ Acide parasulfanilique..... 8g
- ❖ Acide acétique 5L..... 1L

Réactif de Griess II (NRII)

- ❖ α -naphtylamine..... 6g
- ❖ Acide acétique 5N..... 1L

Résumé :

Les rivières sont des écosystèmes profondément perturbés par l'activité humaine dû au rejet des métaux lourds des polluants organiques et des produits pharmaceutiques ainsi que les microorganismes fécaux qui coexistent avec la population microbienne autochtone, ces milieux pourraient être la source de propagation et de transfert de la résistance bactérienne. L'analyse d'eau de différents sites d'Oued Soummam est effectuée pour la recherche des bacilles à Gram négatif.

Sur les 32 prélèvements effectués, 100 souches à Gram négatif sont isolées, 80 souches appartiennent aux entérobactéries et 20 souches appartiennent aux d'autre genre à bacille Gram négatif. La sensibilité de ces souches aux antibiotiques (8 β -lactamines et 4 appartenant aux d'autre famille d'antibiotiques) a révélée que 81,25% des souches BGN isolées sont résistantes à l'AMC, 67%, 62%, 61%, 59% , 50%, 48%, 25% sont résistantes respectivement à la CAZ, ATM, ETP, CTX, CX , et à l'IMP. Les taux de résistance aux autre antibiotiques sont les suivant : 51,51%, 29%, 27% vis-à-vis TE, CN et la CIP. La AK est plus actif sur ces souches avec un taux de résistance de 5%.

La production de β -lactamase à spectre étendu et la production de carbapénèmase est détectée par le test de synergie (DD-test) et par le Carba NP-test modifié respectivement. 44/100 souches sont productrices de BLSE et 10/11 souches sont productrices de carbapénèmase.

Mot clés : eau de rivière, Oued Soummam, bacille à Gram négatif, antibiotique, résistance, BLSE, carbapénèmase.

Abstract:

Rivers are ecosystems deeply disturbed by human activity due to the rejection of heavy metals, organic pollutants and pharmaceutical products as well as fecal microorganisms which coexist with the native microbial population. These environment could be the source of the spread and transfer bacterial resistance. The water analysis from different sites of Soummam wadi is performed to search the Gram-negative bacilli.

Of the 32 samples collected, 100 Gram-negative strains are isolated, 80 strains belong to *Enterobacteriaceae* and 20 strains belong to other kind Gram-negative bacilli.

The sensitivity of these strains to antibiotics (8 β -lactams and 4 belong to another family of antibiotics) revealed that 81.25 % of GNB isolated are resistant to AMC, 67% , 62% , 61% , 59% , 50% , 48% , 25% respectively are resistant to CAZ , ATM, ETP , CTX , CX, and IMP. The rates of resistance to other antibiotics are the following: 51.51% , 29% , and 27% towards TE, CN and CIP. AK is the most active on these strains with a rate of resistance of 5%.

The production of extended spectrum β -lactamase and production of carbapenemase is detected by synergy test (DD-test) and the modified Carba NP-test respectively. 44/100 strains producing ESBL and 10/11 strains producing carbapenemase.

Key words: River water, Soummam wadi, Gram negative Bacilli, antibiotics, resistance, ESBL, carbapenemase.