REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département de Biologie

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

THESE DE DOCTORAT DE

TROISIEME CYCLE (LMD)

EN BIOLOGIE

Spécialité : Biologie et santé

Etude de la résistance et la multi résistance aux antibiotiques des souches isolées du milieu hospitalier

Par :

Boulesnam Saliha Lydia

Soutenu le....., devant le jury composé de :

F.SAIDI	Professeur USDB-1	Présidente
A.DEBIB	Professeur CU-Tipaza	Examinatrice
N. BENOUSSAID	MCA USDB-1	Examinatrice
F.HAMAIDI-CHERGUI	Professeur USDB-1	Directrice de thèse

Blida, 2024

Résumé

L'augmentation des infections nosocomiales représente un défi majeur pour les systèmes de santé à travers le monde. Ces infections, souvent causées par des bactéries multirésistantes, sont favorisées par divers facteurs environnementaux, notamment la contamination des surfaces hospitalières et des dispositifs médicaux.

Dans le but de mieux comprendre l'impact de la contamination environnementale sur la survenue des infections nosocomiales, cette étude vise à caractériser, tant sur le plan phénotypique que génotypique, les bactéries Gram négatif multirésistantes isolées de diverses surfaces hospitalières et dispositifs médicaux au sein de différents établissements de santé de la wilaya de Blida. L'identification des bactéries a été réalisée selon les critères bactériologiques conventionnels. Un antibiogramme a été élaboré par la méthode de diffusion des disques. La détection de la production de β-lactamases à spectre étendu et de carbapénémase au sein des souches a été effectuée à l'aide de plusieurs tests complémentaires conformément aux directives du CLSI. La recherche des gènes de résistance des gènes de résistance *bla* $_{NDM}$, *bla* $_{KPC}$ et *bla*$_{CTX-M}$, a été réalisée à l'aide de la PCR conventionnelle. Parallèlement, la capacité des souches à produire des biofilms a été évaluée sur milieu rouge Congo, par la méthode du tube et la méthode de la plaque de microtitration au cristal violet. Ainsi qu'on a recherché la correlation multiple entre la résistances aux antibiotiques, multirésistance et la formation du biofilm chez les bactéries résistantes

Un total de 494 souches bactériennes a été répertorié, dont 200 (40,48%) étaient classées dans le groupe des bactéries Gram positives, et 294 (59,51%) appartenaient aux bactéries Gram négatives. Les entérobactéries ont prédominé, représentant une fréquence d'isolement de 187 (63,61%), tandis que les Bacilles Gram Négatifs non fermentaires (BGNnf) étaient également présents, bien que moins fréquemment, avec un taux de 30,61% (90). L'analyse de la sensibilité aux antibiotiques a révélé que les souches isolées manifestaient une résistance variable aux antibiotiques de diverses familles, notamment aux β-lactamines. Les mécanismes de résistance comprenaient la production de bêta-lactamases à spectre étendu (70,27%), mécanisme caractéristique des entérobactéries, et de carbapénèmases (44,59%) principalement produites par les BGNnf . De plus, une forte proportion de BGN (94,59%) a présenté une capacité de formation de biofilm.

Les résultats de l'analyse révèlent des corrélations significatives entre divers paramètres liés à la résistance aux antibiotiques et à la formation de biofilm chez les bactérie, tandis que lorsque la bactérie devient multirésistante, avec de nombreux gènes de résistance, sa capacité à former un biofilm tend à diminuer.

Une contribution significative de cette étude réside dans la détection pour la première fois des gènes de résistance *bla*$_{NDM}$, *bla*$_{KPC}$ et *bla*$_{CTX-M}$ chez des souches isolées de l'environnement hospitalier dans la wilaya de Blida.

Ces résultats soulignent l'importance cruciale de la surveillance continue de la résistance bactérienne dans l'environnement hospitalier, ainsi que la nécessité de renforcer les mesures de contrôle pour minimiser la propagation de souches multirésistantes et garantir la sécurité des patients.

Mots clés : Environnement hospitalier, Infections nosocomiales, Bactéries Gram négative, Multirésistance, BLSE, Carbapénèmases, Biofilm, Gènes de résistance

Abstract

The increase in nosocomial infections poses a major challenge for healthcare systems worldwide. These infections, often caused by multidrug-resistant bacteria, are facilitated by various environmental factors, including the contamination of hospital surfaces and medical devices.

In order to better understand the impact of environmental contamination on the occurrence of nosocomial infections, this study aims to characterize, both phenotypically and genotypically, multidrug-resistant Gram-negative bacteria isolated from various hospital surfaces and medical devices within different healthcare facilities in the Blida province. Bacterial identification was performed according to conventional bacteriological criteria. An antibiogram was developed using the disk diffusion method. Detection of extended-spectrum β-lactamases and carbapenemases within the strains was carried out using several complementary tests in accordance with CLSI guidelines. The search for resistance genes *bla*$_{NDM}$, *bla*$_{KPC}$, and *bla*$_{CTX-M}$ was performed using conventional PCR. Additionally, the ability of the strains to produce biofilms was evaluated using the tube method and the microtiter plate method with crystal violet.

A total of 494 bacterial strains were identified, of which 200 (40.48%) were classified as Gram-positive bacteria, and 294 (59.51%) belonged to Gram-negative bacteria. Enterobacteria predominated, representing an isolation frequency of 187 (63.61%), while Gram-negative non-fermenting bacilli (GN-NFB) were also present, albeit less frequently, with a rate of 30.61% (90). Antibiotic susceptibility analysis revealed that the isolated strains exhibited variable resistance to antibiotics from various families, particularly β-lactams. Resistance mechanisms included the production of extended-spectrum β-lactamases (70.27%), a characteristic mechanism of enterobacteria, and carbapenemases (44.59%) mainly produced by GN-NFB. Furthermore, a high proportion of GN (94.59%) demonstrated biofilm-formingcapacity.

A significant contribution of this study lies in the detection, for the first time, of resistance genes *bla*$_{NDM}$, *blaKPC*, and *blaCTX-M* in strains isolated from the hospital environment in the Blida province.

The results of the analysis reveal significant correlations between various parameters related to antibiotic resistance and biofilm formation in bacteria. However, when bacteria become multidrug-resistant, possessing numerous resistance genes, their ability to form biofilms tends to decrease.

These results emphasize the crucial importance of continuous surveillance of bacterial resistance in the hospital environment, as well as the need to strengthen control measures to minimize the spread of multidrug-resistant strains and ensure patient safety.

Keywords: Hospital environment, Nosocomial infections, Gram-negative bacteria, Multidrug resistance, ESBLs, Carbapenemases, Biofilm, resistance genes.

الملخص

تمثل زيادة العدوى المكتسبة داخل المستشفيات تحديًا كبيرًا للأنظمة الصحية في جميع أنحاء العالم. وغالبًا ما تكون هذه العدوى ناجمة عن بكتيريا مقاومة متعددة، وتساهم فيها عوامل بيئية متنوعة، بما في ذلك تلوث الأسطح في المستشفيات والأجهزة الطبية. بهدف فهم تأثير التلوث البيئي على حدوث العدوى المكتسبة داخل المستشفيات بشكل أفضل، تهدف هذه الدراسة إلى تصنيف البكتيريا سالبة الجرام المقاومة المتعددة المعزولة من مختلف الأسطح في المستشفيات والأجهزة الطبية داخل مؤسسات صحية مختلفة في ولاية البليدة.

تمت عملية تحديد البكتيريا وفقًا لمعايير بكتريولوجية تقليدية. وتم إعداد اختبار الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار الأقراص. كما تم الكشف عن إنتاج البيتا لاكتاماز واسع الطيف وكاربابينيماز داخل السلالات باستخدام عدة اختبارات تكميلية وفقًا لإرشادات CLSI

وتم البحث عن جينات المقاومة *blaCTX-M* و*blaKPC* و*blaNDM* باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل.

في الوقت نفسه، تم تقييم قدرة السلالات على إنتاج الأغشية الحيوية على وسط أحمر الكونغو، من خلال طريقة الأنبوب وطريقة لوحة الميكروتيتراشن بالأرجواني البلورية.

تم تسجيل إجمالي 494 سلالة بكتيرية، منها 200 (40.48%) كانت مصنفة ضمن مجموعة البكتيريا إيجابية الجرام، و294 (59.51%) تنتمي إلى البكتيريا سالبة الجرام. كانت الإنتيروبكتيريا هي السائدة، حيث مثلت نسبة عزل 187 (63.61%)، بينما كانت البكتيريا سالبة موجودة أيضًا، ولكن بشكل أقل تكرارًا، بمعدل 30.61% (90). أظهرت تحليل حساسية المضادات (BGNnf) الجرام غير المخمرة الحيوية أن السلالات المعزولة كانت تُظهر مقاومة متغيرة لمضادات حيوية من فئات مختلفة، بما في ذلك البيتا لاكتام. شملت آليات المقاومة إنتاج البيتا لاكتاماز واسع الطيف (70.27%)، وهو آلية نموذجية للإنتيروبكتيريا، وكاربابينيماز (44.59%) التي تنتجها بشكل أساسي BGN (94.59%) بالإضافة إلى ذلك، أظهرت نسبة عالية من .BGNnf قدرة على تشكيل الأغشية الحيوية. كما تم البحث عن علاقات متعددة بين مقاومة المضادات الحيوية، والمقاومة المتعددة، وتشكيل الأغشية الحيوية لدى البكتيريا المقاومة

تكشف نتائج التحليل عن وجود علاقات ذات دلالة إحصائية بين معايير مختلفة تتعلق بمقاومة المضادات الحيوية وتشكيل الأغشية الحيوية لدى البكتيريا، بينما عندما تصبح البكتيريا مقاومة متعددة، مع وجود العديد من جينات المقاومة، فإن قدرتها على تشكيل الأغشية الحيوية تميل إلى الانخفاض.

تتمثل إحدى المساهمات المهمة لهذه الدراسة في الكشف للمرة الأولى عن جينات المقاومة لدى سلالات معزولة من البيئة الاستشفائية في ولاية البليدة. تؤكد هذه النتائج على أهمية المراقبة المستمرة لمقاومة البكتيريا في البيئة الاستشفائية ، وكذلك الحاجة إلى تعزيز تدابير الرقابة لتقليل انتشار السلالات المقاومة المتعددة وضمان سلامة المرضى.

الكلمات المفتاحية

البيئة الاستشفائية ، العدوى المكتسبة داخل المستشفيات، البكتيريا سالبة الجرام، المقاومة المتعددة، كاربابينيمات، الأغشية الحيوية، جينات المقاومة.

Remerciements

Louange à dieu, Allah, le tout puissant et miséricordieux pour toute la volonté, le courage, la patience et la force qu'il m'a donnée pour achever ce travail. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

J'adresser mes plus vifs remerciements à ma directrice de thèse, **Hamaidi-Chergui Fella**, votre expertise éclairée, votre orientation stratégique et votre disponibilité sans faille ont été des atouts précieux tout au long de ce voyage académique. Votre mentorat a été une source d'inspiration constante et a grandement contribué à mon développement intellectuel.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour Professeur **Saidi Fayrouz** pour son leadership exceptionnel en tant que chef de laboratoire de recherche, Biotechnologie Environnement et Santé, son expertise, son dévouement et son soutien ont été essentiels à la réussite de notre équipe et à l'avancement de notre projet.

Je remercie **Professeur Debib Aicha** et **Docteur Benoussaid-Ait Saadi Nacera**, votre engagement dans l'évaluation de mon travail ont été d'une valeur inestimable. Je suis reconnaissant pour le temps que vous avez consacré à l'examen attentif de ma recherche et pour les discussions enrichissantes qui en ont découlé.

Je souhaite également remercier tous d'abord Professeur **ABDI Samia** chef de laboratoire central, CHU Frantz Fanon, les maitres assistantes : **Docteur AZROU.S, Docteur Benamara.M et Docteur Berouaken.S**, bien aussi les ingénieurs de l'unité de microbiologie, mes dames : **Taffet.A, Mustapha.S , Bouamra .N, Badrani.F et Tassist.L** pour leur collaboration fructueuse, leurs échanges stimulants et leur soutienindéfectible. Leur contribution a été essentielle à la progression de mes travaux et à l'enrichissement de mes réflexions.

Je n'oublie pas non plus de témoigner ma reconnaissance à mes parents pour leur amour, leur soutien indéfectible et leur encouragement tout au long de mon parcoursacadémique, ma famille et à mes amis pour leur soutien constant, leurs encouragements sincères et leur compréhension tout au long de cette aventure intellectuelle exigeante.

TABLE DES MATIERES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

REMERCIMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION GENERALE… 20

Chapitre 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE… 24

1.1. Infection nosocomiale..... 24

1.1.1. Définition 24

1.1.2. Principales infections nosocomiales…..... 24

1.1.3. Prévalence et conséquences des infections nosocomiales… 25

1.1.4. Facteurs de risque des infections nosocomiales 25

1.1.4.1. Origine des agents pathogènes… 26

1.1.4.2. Principaux agents responsables d'infection nosocomiale.....26

1.1.4.3. Mode de transmission 26

1.1.5. Risque nosocomial lié à l'environnement hospitalier… 27

1.1.5.1. Place de l'environnement hospitalier dans la survenue des infections nosocomiales 27

1.2. Bactéries Gram négatives multi résistantes hospitaliers… 30

1.2.1. *Enterobacteriaceae* 30

1.2.1.1. Caractères bactériologiques..... 31

1.2.1.2. Pouvoir pathogène et virulence..... 33

1.2.2. Bacilles à Gram négatif non fermentant nosocomial 36

1.2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa* 36

1.2.2.1.1 Caractères bactériologiques.....37

1.2.2.1.2. Pouvoir pathogène et virulence..... 38

1.2.2.2. *Acinetobacter baumannii* 38
1.2.2.2.1. Caractères bactériologiques 39
1.2.2.2.2. Pouvoir pathogène et virulence.....40
1.2.2.3. *Burkholderia cepacia* 41
1.2.2.3.1. Caractères bactériologiques.....41
1.2.2.3.2. Pouvoir pathogène et virulence 41
1.2.2.4. *Stenotrophomonas maltophilia* 41
1.2.2.4.1. Caractères bactériologiques.....42
1.2.2.4.2. Pouvoir pathogène 42
1. 3. Biofilms bactériens 42
1. 3.1. Formation des biofilms 42
1. 4. Emergence et propagation de la résistance.....43
1.5. Antibiotiques et antibiorésistance.....44
1.5.1. Antibiotiques 44
1.5.2. Résistance et multirésistance bactérienne 48
1.5.2.1. Support génétique de la résistance bactérienne aux ATB 49
1.5.2.2. Mécanisme de la résistance bactérienne aux ATB 50
1.5.2.2.1. Résistance par inactivation enzymatique de l'ATB..... 50
1.5.2.2.2. Résistance par modification de la cible.....52
1.5.2.2.3. Résistance par excrétion de l'ATB par mécanisme d'efflux.....52
1.5.2.2.4. Résistance par diminution de la perméabilité 53
1.5.3. Résistance des entérobactéries 53
1.5.3.1. Résistance des entérobactéries aux β-lactamines 53
1.5.3.2. Résistance aux aminosides 55
1.5. 3.3. Résistance des entérobactéries aux quinolones 56
1.5. 3.4. Résistance des entérobactéries aux polymyxines 56
1.5.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques *P .aeruginosa*..... 56
1.5. 4.1. Résistance aux β-lactamines.....56
1.5. 4.2. Résistance aux aminosides 58
1.5. 4.3. Résistance aux quinolones..... 58
1.5.4.4. Résistance aux polymyxines 58

1.5. 5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *A. baumannii* 59
1.5. 5.1. Résistance aux β-lactamines.....59
1.5. 5.2. Résistance aux aminosides 61
1.5. 5.3. Résistance aux quinolones 62
1.5 5.4. Résistance aux Polymyxines 63
1.5.6. Mécanisme de résistance de *Burkholderia cepacia* 63
1.5.7. Mécanisme de résistance de *Stenotrophomonas maltophilia*.....64
1.5.8. Biofilm et résistance aux antibiotiques.....64
1.6. Prévention et Moyens de lutte contre les BMR dans l'E.H..... 66
1.6.1. Hygiène de l'environnement hospitalier.....66
1.6.1.1. Antisepsie 66
1.6.1.2. Désinfection..... 66
1.6.2. Surveillance des infections nosocomiales 67
1.6.2.1. Enquête de prévalence 67
1.6.3. Mesures de prévention.....67
1.6.3.1Technique d'isolement 67
1.6.3.2. Cohorting.....68
1.6.3.3. Stratégies anti-biofilm 68

Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES 69
2.1. Cadre de l'étude..... 69
2.2. Echantillonnage..... 70
2.2.1. Sites de prélèvement..... 72
2.2.2. Prélèvement des échantillons..... 73
2.2.3. Isolement et purification 73
2.2.4. Identification des souches étudiées..... 74
2.2.5. Conservation des souches.....75
2.3. Etude de la sensibilité des bacilles Gram négatif aux antibiotiques 75
2.3.1. Caractérisation qualitative du profil de résistance des SI 75
2.3.2. Caractérisation quantitative du profil de résistance des SI 77
2.4. Caractérisation phénotypique des β-lactamases chez les souches résistantes . 78
2.4.1. Recherche des β-lactamases à spectre étendu (BLSE)..... 78

2.4.1.1. Test de synergie 79
2.4.1.2. Test du double disque 80
2.4.1.3. Détermination de la CMI des céphalosporines de 3ème génération seules ou associées à l'acide clavulanique 81
2.4.2. Recherche des céphalosporines hyper produites AmpC (CHN)..... 81
2.4.3. Recherche de carbapénèmases... 82
2.4.3.1. Test de Hodge modifié 83
2.4.3.2. Carba NP test 84
2.4.3.3. Test à l'EDTA 85
2.4.3.4. Test à la témocilline 86
2.5. Caractérisation génotypique des β-lactamases chez les souches résistantes....86
2.6. Potentiel de formation du biofilm par les souches isolées..... 90
2.7. Indice de multirésistance (IMR) 94
2.8. Analyse statistique 94
Chapitre 3 : RESULTATS ET DISCUSSION... 95
3.1. Répartition des prélèvements 95
3.2. Identification phénotypique des souches isolées..... 97
3.3. Répartition des bactéries Gram négatives 99
3.3.1. Répartition des bactéries Gram négatives par groupe 99
3.3.2. Répartition des bactéries Gram négatifs par services 108
3.4. Profil de résistance des bactéries Gram négatives..... 111
3.4.1. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées..... 111
3.4.2. Concentration Minimale Inhibitrice 112
3.4.3. Profil de résistance des BGN isolées 116
3.5. Phénotype de résistance des bactéries Gram négatives isolées 121
3.5.1. Bactéries Gram négative BLSE 121
3.5.1.1 CMI céphalosporine de 3ème génération seule ou associée 124
3.5.2. Bactéries Gram négative sécrétrices de CHN... 126
3.5.3. Bactéries Gram négative sécrétrices des carbapenèmases... 128
3.6. Caractérisation du profil de résistance des BGN multirésistantes 133
3.7. Gènes de résistance chez quelques BGN multi-résistantes Isolées... 134

3.8. Potentiel de formation de biofilm chez BGN résistantes Isolées 137
3.9. Répartition des bactéries Gram négatives résistantes aux niveaux des différents établissements étudiés « Enquêtes de prévalence » 143
3.9.1. Centre hospitalo-universitaire Frantz Fanon « 2019-2021 » 143
3.9.1.1. Réanimation 143
3.9.1.2. Service de neurochirurgie 149
3.9.1.3. Service de traumatologie 153
3.9.1.4. Centre anti cancer : service hématologie 157
3.9.2. Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik « 2019 » 159
3.9.2.1. Service de néonatologie 159
3.9.2.2. Service de gynécologie 162
3.9.3. Etablissement Public Hospitalier (EPH) Brahim Abdellah Tirichine « 2020 » 164
3.9.3.1. Médecine interne 164
3.9.4. Etablissement Public Hospitalier El-Affroun « 2022 » 165
3.9.4.1. Service gynécologie 165
DISCUSSION GENERALE 168
CONCLUSION ET PERSPECTIVES 189
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Persistance des bactéries d'origine clinique sur les surfaces sèches inanimées… 29

Tableau 1.2 : Zones à risque à l'hôpital… 29

Tableau 1.3 : Localisation des BMR en milieu hospitalier… 30

Tableau 1.4 : Classification des entérobactéries… 30

Tableau 1.5 : Classification des entérobactéries les plus rencontres en pathologie humain… 31

Tableau 1.6 : Classification des β-lactamases bactériennes… 51

Tableau 1.7 : Enzymes d'inactivation des aminosides produits par *A.baumannii* et spectre d'activité 62

Tableau 2.1 : Période et répartition du nombre de prélèvements par service… 71

Tableau 2.2 : Classement des services étudiés selon les zones de risque 71

Tableau 2.3 : Répartitions des sites de prélèvement… 72

Tableau 2.4 : Méthode de la CMI en milieu gélifié et liquide 78

Tableau 2.5 : Préparation des boites de cloxacilline 82

Tableau 2.6 : Interprétation de la réaction colorimétrique du Carba NP test..... 85

Tableau 2.7 : Détection des carbapénèmases selon les tests complémentaires 87

Tableau 2.8: Amorces utilisées dans la détection des β-lactamase à spectre étendu et les carbapénèmases… 90

Tableau 2.9 : Classification de la formation de biofilm 94

Tableau 3.1 : Répartition des prélèvement positifs et négatifs au niveau des différents établissements hospitaliers… 96

Tableau 3.2 : Répartition des contaminations des surfaces et des dispositifs médicaux au niveau des services étudiés… 96

Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites… 100

Tableau 3.4 : Répartition des différents BGN isolées… 107

Tableau 3.5: Répartition des souches Gram- isolées au niveau des différents services dans les différents établissements… 109

Tableau 3.6 : Profil de résistance aux antibiotiques des BGN isolées 111

Tableau 3.7: Fréquence des entérobactéries en fonction des concentrations minimales inhibitrices (µg/ml).....113

Tableau 3.8 : Fréquence des BGNnf en fonction des concentrations minimales inhibitrices (µg/ml).....114

Tableau 3.9 : Profils de résistance des entérobactéries… 116

Tableau 3.10 : Profils de résistance des BGNnf..... 117

Tableau 3.11: Répartition des entérobactéries selon les profils de MR… 118

Tableau 3.12 : Répartition des BGNnf selon les profils de résistance 119

Tableau 3.13: Répartition des EBLSE selon les profils de résistance..... 125

Tableau 3.14 : Répartition des entérobactéries sécrétrices de métallo-β-lactamases selon les profils résistance 130

Tableau 3.15 : Répartition des BGNnf sécrétrices de métallo-β-lactamases selon les profils de résistance..... 130

Tableau 3.16 : Répartition des BGN multi-résistantes testé pour les différents gènes de résistance 134

Tableau 3.17 : Répartition des mécanismes de résistance selon gènes *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{KPC}$ et *bla*$_{NDM}$ 137

Tableau 3.18 : Répartition des BGN isolées selon leurs potentiels de formation de biofilm 139

Tableau 3.19 : Fréquence des BGN isolées au niveau de service de réanimation 144

Tableau 3.20: Répartition des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de réanimation selon les profils de résistance 144

Tableau 3.21 : Fréquence des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de réanimation selon les mécanismes de résistance 146

Tableau 3.22: Fréquence des BGN isolées à partir des différents sites au sein du service de réanimation 147

Tableau 3.23 : Fréquence des BGN isolées au niveau du service de neurochirurgie… 149

Tableau 3.24 : Répartition des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de neurochirurgie selon les profils de résistance 150

Tableau 3.25 : Fréquence des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de neurochirurgie selon les mécanismes de résistance 151

Tableau 3.26 : Fréquence des BGN isolée à partir des différents sites au niveau du service de neurochirurgie 152

Tableau 3.27 : Fréquence des BGN isolées au niveau du service de traumatologie… 153

Tableau 3.28 : Répartition des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de traumatologie selon les profils de résistance 154

Tableau 3.29 : Fréquence des BGN multi-résistantes isolées au niveau du

service de traumatologie selon les mécanismes de résistance 155

Tableau 3.30 : Fréquence des BGN isolée à partir des différents sites au niveau du service de traumatologie… 156

Tableau 3.31 : Répartition des entérobactéries isolées à partir des différents sites au niveau de service d'hématologie…..... 159

Tableau 3.32 : Fréquence des BGN isolées au niveau du service de néonatologie… 159

Tableau 3.33 : Fréquence des BGN isolées au niveau de service de gynécologie…162

Tableau 3.34 : Fréquence des BGN isolées aux niveau des services de diabétologie et pneumologie « Médecine interne » 164

Tableau 3.35 : Répartition des BGN résistants des différents sites aux niveau des services de diabétologie et pneumologie « Médecine interne » 165

Tableau 3.36 : Fréquence des BGN isolées au niveau de service de gynécologie… 166

Tableau 3.37 : Prévalence des BGN multirésistantes isolées en Algérie..... 169

Tableau 3.38 : Répartition des β-lactamases identifiées chez les souches BGN cliniques isolée en Algérie 184

Tableau 3.39 : Temps de survie des BGN sur les différentes surfaces… 188

Liste des figures

Figure 1.1: Chaine épidémiologique de transmission d'un agent infectieux 28

Figure1.2 : Etapes de formation du biofilm bactérien 43

Figure 1.3 : Cible thérapeutique des antibiotiques.....45

Figure 1.4 : Principaux mécanismes de transfert horizontal d'éléments génétiques entre les bactéries 49

Figure1.5 : Catégories moléculaires de la classification d'Ambler.....51

Figure 1.6 : Structure générale et fonction des pompes d'efflux RND 52

Figure 1.7 : Mécanisme de résistance des *A. baumannii* à la colistine 63

Figure 1.8 : Mécanismes moléculaires de persistance des biofilms 65

Figure 2 .1 : Processus de prélèvement des échantillons à partir des sites..... 73

Figure 2.2 : Processus d'identification des souches isolées par la galerie API 75

Figure 2.3 : Démarche de détection des souches BLSE et CHN 79

Figure 2.4 : Test de double disque.....80

Figure 2.5 : Screening des carbapénèmase chez les souches isolées..... 83

Figure 2.6: Test de Hodge modifié.....84

Figure 2.7: Test à l'EDTA 86

Figure 2.8 : Etapes suivies dans la caractérisation génotypique.....87

Figure 2.9: Caractérisation du biofilm bactérien chez les souches isolées 91

Figure 3.1 : Aspect macroscopique des souches isolées sur les différents milieux de culture..... 98

Figure 3.2 : Observation microscopique des frottis bactériens des prélèvements Gr 10X10 98

Figure 3.3: Répartition des souches Gram négatives isolées 98

Figure3.4 : Répartition des BGN isolées en fonction des sites de prélèvement.....99

Figure 3.5 : Fréquence des souches Gram négative non fermentaires.....108

Figure 3.6 : Degré de similarité des espèces en fonction des services 110

Figure 3.7 : Dendrogramme de regroupement des différentes espèces isolées……110

Figure 3.8 : Profil d'antibiogramme de deux souches isolées de *A. baumannii* …….112

Figure 3.9 : CMI d'Imipenème en milieu liquide et solide chez des souches d'entérobactéries (5,6, 7 et P1) et *P. aeruginosa* (P2) 113

Figure 3.10 : CMI E-test Colistine d'une souche de *K. pneumoniae*.....114

Figure 3.11 : CMI Céftazidime sur milieu solide chez des souches BGNnf 115

Figure 3.12 : CMI E-test Colistine d'une souche de *A.baumannii* résistante aux carbapénèmes.....116

Figure 3.13 : Profil de résistance chez deux souches d'*E.cloacae* 117

Figure 3.14 : CMI des carbapenèmes sur milieu solide des souches BGNnf..... 119

Figure 3.15 : Répartition des souches résistante selon les services étudiés 120

Figure3.16 : Distribution des Espèces Résistantes à travers les Services Hospitaliers : « Analyse de Similarité » 121

Figure 3.17 : *E. cloacae* sécrétrice de béta lactamase à spectre élargie 122

Figure 3.18 : Cartographie de la distribution des souches sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) dans les services hospitaliers : « Aperçu par Heatmap » 123

Figure 3.19 : Profil de distribution des souches BLSE par service hospitalier… 124

Figure 3.20 : CMI E-test combiné CTX et CTX+ Acide clavulanique 124

Figure 3.21 : Souche de *A. baumannii* résistante à la cétazidime.....125

Figure 3.22 : Test à la cloxacilline positif d'une souche K.pneumoniae profil de résistance « II » 126

Figure 3.23 : Test de cloxacilline négatif d'une souche de *A.baumannii*..... 127

Figure 3.24 : Dendrogramme de la distribution des souches CHN selon les services hospitaliers 127

Figure 3.25: Caractérisation des souches résistantes aux carbapénèmes 128

Figure 3.26 : Test de disque combiné à IMP et IMP-EDTA positif.....129

Figure 3.27 : CMI E-test combiné IMP et IMP+ EDTA 130

Figure 3.28 : Test de disque combiné à EDTA négatif deux souches de *A. baumannii* et de *P. aeruginosa*.....131

Figure 3.29 : Cartographie de la distribution des souches sécrétrices de métallo-bêta-lactamases (MBL) dans les services hospitaliers 132

Figure 3.30 : Test de témocilline négatif chez *A.baumannii* sécrétrice de métallo-β-lactamase 133

Figure 3.31 : Gel d'agarose des produits PCR du gène bla_{CTX-M} 135

Figure 3.32 : Gel d'agarose des produits PCR du gène *bla*$_{NDM}$ 136

Figure 3.33 : Gel d'agarose des produits PCR du gène *bla*$_{KPC}$ 136

Figure 3.34 : Aspect des souches Productrices de biofilm sur milieu rouge Congo 138

Figure 3.35: Aspect du biofilm par la méthode de tube 138

Figure3.36 : Aspect du biofilm sur plaque avant lecture de la DO 139

Figure 3.37 : Répartition des différentes espèces d'entérobactéries résistantes selon leur potentiel de formation de biofilm 140

Figure 3.38 : Répartition des *A. baumannii* et *P.aeruginosa* résistantes selon leur potentiel de formation de biofilm 141

Figure 3.39 : Corrélation entre la résistance aux antibiotiques, la multirésistance et la formation de biofilms chez les bactéries 142

Figure 3.40 : Visualisation de la corrélation multiple entre la résistance aux antibiotiques, multirésistance et formation de biofilms chez les bactéries isolées 143

Figure 3.41 : Détermination de la CMI de la méropénème en milieu liquide a été réalisée pour les BGN isolés au sein du service de réanimation 145

Figure 3.42 : CMI de la Colistine sur milieu solide pour les souches isolées au niveau de la réanimation 146

Figure 3.43 : Profil de résistance d'une souche de *K. pneumoniae* MBL+ isolées au niveau de la réanimation 147

Figure 3.44 : Aspect des colonie de *P.mirabilis* sur milieu rouge Congo 148

Figure 3.45 : *E.cloacae* BLSE+ isolée au niveau du service de Neurochirurgie 151

Figure3.46 : Profil de résistance de *P.mirabilis* isolées du service de traumatologie 155

Figure3.47 : CMI E-test combiné IMP et IMP+ EDTA de *A. baumannii* isolées du service de traumatologie 156

Figure 3.48 : Profil de résistance des entérobactéries isolées du service d'hématologie 157

Figure 3.49 : Image de synergie entre CTX et TCC (bouchon de champagne) observé chez *K.pneumoniae* BLSE+ isolée au niveau de service traumatologie 158

Figure 3.50 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* Biofilm+ sur milieu rouge Congo 160

Figure3.51 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez *P. aeruginosa* sensible isolé du service néonatologie 161

Figure 3.52 : Image de synergie entre CTX et AMC (bouchon de champagne) observé chez E. cloacae BLSE+ isolée au niveau de service néonatologie 161

Figure 3.53 : Aspect du biofilm sur parois du tube par les souches de *K. pneumoniae* et *K. terrigena* isolées au niveau de service néonatologie 161

Figure 3.54 : Test à la cloxacilline positif chez *K.pneumoniae* isolée au niveau de service néonatologie 162

Figure 3.55 : *K. oxytoca* CHN+ isolée au niveau du service de gynécologie 163

Figure3.56 : Aspect du biofilm sur tube formé par les BGN isolées du service de gynécologie 164

Figure 3.57: *E.cloacae* BLSE+ isolée au niveau du service de gynécologie 166

Figure3.58 : Aspect des colonies de *E. cloacae* et *A. baumannii* Biofilm+ sur milieu rouge Congo..... 167

Introduction

Les infections nosocomiales, également connues sous le nom d'infections associées aux soins, représentent actuellement un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Elles entraînent des taux de mortalité élevés, prolongent la durée d'hospitalisation des patients et augmentent les coûts de traitement et de prise en charge, comme le souligne l'Organisation mondiale de la santé en 2014 [1].

La contamination de l'environnement hospitalier est identifiée comme un risque réel de contracter ces infections, bien que cela soit rarement démontré en raison des difficultés fréquentes à établir un lien épidémiologique entre les agents infectieux présents dans l'environnement et la survenue des infections nosocomiales [2].

De nombreux agents pathogènes ont la capacité de survivre dans l'environnement sur de longues périodes, agissant ainsi comme des vecteurs de transmission et de dissémination au sein des établissements de santé. La transmission croisée de ces agents pathogènes peut se produire via les mains du personnel de santé, qui sont contaminés directement par contact avec le patient ou indirectement par contact avec des surfaces environnementales contaminées. Cette contamination croisée a été impliquée dans la survenue de 20 à 40% des IAS [3].

Il a été démontré que les bactéries à Gram négatif, en particulier les espèces telles que *Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Acinetobacter baumannii et Pseudomonas aeruginosa*, sont à l'origine d'un nombre important d'infections nosocomiales dans divers établissements de santé [4]. Ainsi, ces pathogènes opportunistes, souvent responsables d’infections pulmonaires et de bactériémies sévères, notamment dans les blocs opératoires, les services de réanimation et de maternité, en raison des niveaux d'immunité réduits, voire déprimés, chez les patients hospitalisés dans ces services médicaux [5].

La résistance aux antibiotiques constitue une source de préoccupation majeure au sein des établissements hospitaliers influencée par deux facteurs clés : la pression de sélection résultant de l'usage étendu de l'antibiothérapie et la résistance croisée, comme souligné par Soussy en 2007 [6]. D’autre part, il est important de noter que l'émergence constante et la propagation de nouveaux mécanismes de résistance ajoutent une couche de complexité significative au traitement des infections

bactériennes [7]. Cette problématique a été soulignée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans son rapport de 2020 [8]. La diminution de l'efficacité des antibiotiques, principalement due à l'adaptabilité inhérente des microorganismes face aux agents antibactériens, constitue un défi majeur dans la gestion des infections [9]. Cette résistance bactérienne aux antibiotiques est principalement la conséquence d'une variété de phénomènes tels que l'altération de la cible d'antibiotique, l'imperméabilité de la bactérie à l'antibiotique et les changements génétiquement associés (événements mutationnels, transfert génétique de gènes de résistance par le biais de plasmides et mutations des gènes cibles) [10].

Les bactéries Gram-négatives sont devenues de plus en plus résistantes aux antibiotiques disponibles. Certaines souches ont atteint un niveau de résistance tel qu'elles ne répondent plus à la plupart des antibiotiques disponibles, comme l'ont souligné Singh et al. en 2016 [11]. Les carbapénèmes, appartenant à la classe des β-lactamines, sont fréquemment utilisés en dernier recours pour traiter les infections causées par des bacilles à Gram négatif multirésistants. Au sein des entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes peut découler de mécanismes combinés impliquant des β-lactamases présentant une activité de carbapénèmase très faible, associée à une diminution de la perméabilité de la membrane externe, ou de la présence de véritables carbapénèmases. Ces dernières peuvent être classées en différents types, tels que KPC, les métallo-enzymes (VIM, IMP, etc.) ou les oxacillinases, parmi lesquelles OXA-48 figure parmi les carbapénèmases récemment décrites chez les entérobactéries [12]. Il est également important de mentionner l'émergence récente de la métallo-β-lactamase NDM-1, suscitant des préoccupations. La découverte de nouvelles molécules antimicrobiennes dans le monde témoigne des échanges de gènes de résistance entre entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii*, comme le souligne Nordmann en 2010 [12].

La transmission horizontale de gènes de résistance aux antibiotiques suscite une préoccupation croissante dans le contexte de la résistance bactérienne aux antimicrobiens. L'émergence des β-lactamases à spectre étendu (BLSE), en particulier les variantes NDM-1, OXA, KPC et CTX-M, a conduit à une résistance accrue aux β-lactamines, englobant les pénicillines, les carbapénèmes et les céphalosporines, avec des répercussions significatives sur le traitement des infections bactériennes, notamment les infections urinaires [13] [14]. Ces enzymes catalytiques, capables

d'hydrolyser un large éventail d'antibiotiques β-lactamines, représentent un mécanisme clé de la résistance acquise. Ce processus, facilité par divers éléments génétiques tels que les plasmides, les transposons et les intégrons, amplifie la propagation de ces déterminants de résistance [15].

Cependant, l'échec d'un traitement antimicrobien ne se limite pas à une seule cause. En réalité, la capacité à former des communautés appelées biofilms, intégrées dans une matrice d'exopolysaccharides, constitue l'un des mécanismes de résistance utilisés par les bactéries pour survivre en présence d'antibiotiques. En cet état, les bactéries peuvent être jusqu'à 1 000 fois plus résistantes aux antibiotiques que celles présentes à l'état planctonique [16] [17].

La formation de biofilms par les bactéries Gram négatives représente une adaptation remarquable ayant des implications significatives en termes de résistance aux antibiotiques. Les mécanismes moléculaires sous-jacents à la multirésistance des bactéries Gram négatives dans les biofilms impliquent souvent une surexpression de gènes de résistance [18]. Les biofilms bactériens formés dans l'environnement hospitalier jouent un rôle crucial dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques par le transfert horizontal de gènes de résistance. Ces gènes peuvent être codés sur des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides conjuguais et mobilisables, ou des éléments intégratifs [19].

En Algérie, la fréquence des infections nosocomiales est en augmentation, notamment dans les établissements de santé situés dans les grandes villes du Nord. Des enquêtes menées par Atif et al. (2006) [20] visaient à évaluer la prévalence des infections nosocomiales chez les patients hospitalisés, avec pour objectif d'estimer la fréquence de ces infections et de surveiller leur évolution au fil du temps. D'autres études menées par Baba Ahmed et al. (2014) [21], Khorsi et al. (2015) [22], Yagoubat et al. (2016) [23], Benzaid et al. (2022) [24], Nabti et al. (2022) [25], Labid et al. (2023) [26] ont mis en évidence la dissémination des résistances bactériennes dans différents établissements de santé, soulignant ainsi le risque de propagation des bactéries multi-résistantes à l'échelle nationale.

Ces souches résistantes ont été identifiées sous forme de petits foyers dans le Nord de l'Algérie, notamment à Alger, Constantine, Bejaia, Tlemcen, Tizi-Ouzou,

Annaba, Oran et Sétif, comme rapporté par Ramdani-Bouguessa et al. (2011) [27], Touati et al. (2007) [28], Messai et al. (2008) [29], et Boulanger et al. (2012) [30].

La relation entre les souches bactériennes présentes dans l'environnement hospitalier et celles trouvées chez les patients revêt une importance primordiale. La plupart des recherches se sont concentrées sur les bactéries isolées chez les patients, telles que celles menées par Iabadene et al., 2009 [31], Drissi et al., 2010[32], et Berrazeg et al., 2009 [33]. En revanche, peu d'études ont porté sur celles présentes sur les surfaces et les dispositifs à proximité des patients, malgré leur importance en tant que points critiques dans la lutte contre la résistance croissante aux antibiotiques, comme l'ont souligné Mesli et al., 2013 [34]et Touati et al., 2008[35].

Cependant, il est essentiel de souligner que les informations actuellement disponibles sur le degré de contamination de l'environnement hospitalier par des bactéries Gram négatif multirésistantes en Algérie, notamment dans la région de Blida, sont limitées. C'est dans ce contexte que nous avons jugé nécessaire :

- D'évaluer le degré de contamination de l'environnement hospitalier par ces bacilles Gram négatifs multirésistants.
- Examiner le rôle de l'environnement dans la propagation de la résistance aux antibiotiques et la transmission croisée.
- Caractériser phénotypiquement et génotypiquement les bactéries Gram négatif multirésistantes isolées des diverses surfaces hospitalières et dispositifs médicaux dans différents établissements de santé de la wilaya de Blida.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons suivi les étapes suivantes :

- Isoler et identifier les bacilles Gram négatifs à partir de divers emplacements dans l'environnement hospitalier de différents établissements de santé de la wilaya de Blida.
- Étudier la sensibilité aux antibiotiques afin de cibler les souches multirésistantes.
- Rechercher les gènes de résistance codant pour les béta lactamases à spectre élargi (BLSE) tels que *bla* $_{CTX-M}$, ainsi que les carbapénémases *bla* $_{KPC}$ et *bla* $_{NDM}$ chez certaines bactéries Gram négatif multirésistantes.

Ainsi, la surveillance de ces bactéries multirésistantes permettrait de quantifier l'ampleur du problème et de développer des stratégies d'intervention et de lutte adaptées à nos établissements de santé.

Chapitre 1
Synthèse bibliographique

1. Infection nosocomiale

1.1.1. Définition

Les infections nosocomiales (IN) peuvent être décrites comme des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un établissement de santé dans un délai de 48 heures entre l'admission et les premiers symptômes Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement [36].

1.1.2. Principales infections nosocomiales

Selon Thibault (2011) [37], la fréquence et l'étiologie des IN varient considérablement selon la région étudiée, le type de service hospitalier et le type de patients. Cependant, certaines catégories d'infections se distinguent des autres :

- **Les infections urinaires :** les plus fréquentes sont celles qui se produisent lors d'un sondage urinaire à domicile.
- **Les infections du site opératoire :** on distingue pour cette catégorie les infections de la plaie opératoire (plutôt superficielle à l'origine) et les infections profondes touchant les organes. Les IN peuvent apparaître très tard, jusqu'à un an après une intervention chirurgicale visant à implanter une prothèse ou une transplantation.
- **Les pneumopathies :** sont souvent liées à la ventilation mécanique, ce qui est un véritable problème dans les unités de soins intensifs (USI).
- **Les septicémies** la majorité des cas de septicémies nosocomiales sont liés à l'utilisation de dispositifs médicaux soit les dispositifs intra-vasculaires (comme les chambres de perfusion veineuse) soit les cathéters centraux ou périphériques [36].

1.1.3. Prévalence et conséquences des infections nosocomiales

Les IN constituent actuellement un problème majeur de santé publique à travers le monde, ce qui entraîne des mortalités, une prolongation de l'hospitalisation des patients et une augmentation des coûts de traitement et de prise en charge des patients. Selon une enquête de prévalence de l'OMS (2014) [38]., une infection nosocomiale affecte en moyenne 8,7 % des patients hospitalisés.

Plus de 1,4 million de personnes dans le monde subissent des complications infectieuses acquises à l'hôpital à tout moment [39].

Les hôpitaux de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-est ont rapporté les fréquences les plus élevées (11,8 % et 10,0 % respectivement). Tandis que la prévalence était de 7,7 % en Europe et de 9 % dans le Pacifique occidental. Il arrive parfois que ce taux dépasse les 25 % dans les pays en développement [39].

Les services les plus touchés sont par ordre décroissant : la réanimation avec des taux de prévalence moyens de l'ordre de 30%, la chirurgie avec des taux de 7 à 9% et la médecine générale avec des taux de prévalence de 5 à 10%. Les services à moindre risque sont les services de pédiatrie et de psychiatrie [39].

Une étude multicentrique menée dans 27 hôpitaux en Algérie, en Égypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie afin d'évaluer la prévalence et les caractéristiques des infections nosocomiales, ainsi que les enquêtes menées par Atif et al., (2009) [40], AMMED et al., (2017) [41] en Algérie ont estimé que, les infections urinaires étaient les plus fréquentes suivie par les sites opératoires. Les services de pédiatrie ont enregistré également une prévalence particulièrement élevée [42]

1.1.4. Facteurs de risque des infections nosocomiales

Il existe de nombreux facteurs qui favorisent le développement des IN. Ces facteurs peuvent être intrinsèques ou extrinsèques et sont liés au patient (âge, sexe, obésité, diabète, tabagisme, immunodépression, pathologies aigues, malnutrition), aux soins (endoscopie, dialyse, sonde urinaire, intubation/ventilation, drainage, ponctions, cathétérisme, antibiothérapie, traitements immunosuppresseurs), à l'agent infectieux (virulence et/ou résistance), à l'environnement (mauvaise hygiène et non-respect des normes d'hygiène hospitalière) ainsi que le mode de transmission [43].

1.1.4.1. Origine des agents pathogènes

Les agents pathogènes responsables d'IN peuvent avoir deux origines :

- **Endogène :** représenté par la flore commensale chez les patients avant l'hospitalisation, tel que celle présente au niveau des voies respiratoires, la peau, gastro-intestinale ou génitale.
- **Exogène :** les microorganismes ont été en contact avec le patient au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire ou résidente du personnel soignant ou de visiteurs, de dispositifs médicaux et même de l'environnement et des locaux hospitaliers [44].

1.1.4.2. Principaux agents responsables d'infection nosocomiale

Les microorganismes dans les hôpitaux sont très divers (bactéries, levures, champignons filamenteux, virus et parasites) et peuvent être des espèces opportunistes qui ne manifestent leur virulence que sur des organismes dont les défenses immunitaires sont affaiblies, plutôt que des espèces habituellement pathogènes pour l'homme. Parmi ces microorganismes, les bactéries jouent un rôle potentiel dans les infections hospitalières [45].

1.1.4.3. Mode de transmission

- **Auto-infection**

C'est le cas lorsque le patient est infecté par sa propre flore bactérienne in situ ou par l'environnement proche. Les bactéries saprophytes causent généralement des infections après des antibiothérapies ou des traitements immunosuppresseurs [46].

- **Hétéro-infection**

L'infection xénogénique se produit lorsque l'agent infectieux est transmis d'un patient à un autre. Elle entraîne ce qu'on appelle une infection hétérologue ou une infection croisée. Les mains et les outils du personnel soignant sont les vecteurs les plus courants. C'est le modèle de contamination le plus important lors de nombreuses épidémies [46].

- **Xéno-infection**

Ces infections sont endémiques ou épidémiques et concernent les populations non hospitalisées. Les patients, les ambulanciers paramédicaux, les visiteurs atteints ou en incubation importent des agents pathogènes infectieux dans les hôpitaux. Ils se propagent par voie aérienne, par contact direct ou indirect [46].

- **Exo-infection**

Les hôpitaux sont fréquemment touchés par cette infection en raison de problèmes techniques tels qu'une désinfection inefficace, des filtres à air/eau stériles contaminés, des matériels utilisés par les paramédicaux ou à domicile et des personnes malades. Ces personnes sont susceptibles d'être contaminées, ce qui peut entraîner une infection souvent répandue [46].

- **Patient réceptif**

Une immunosuppression légère peut être causée par certaines maladies, telles que les patients brûlés, les patients alités avec des escarres étendues, les polytraumatisés et les personnes âgées, en particulier les bébés prématurés, qui sont exposées à des infections à l'hôpital [46].

1.1.5. Risque nosocomial lié à l'environnement hospitalier

1.1.5.1. Place de l'environnement hospitalier dans la survenue des infections nosocomiales

La contamination de l'environnement hospitalier est considérée comme un risque réel d'acquérir une infection liée aux soins, ce qui est rarement démontrable parce qu'il est souvent difficile d'établir un lien épidémiologique entre l'agent infectieux de l'environnement et la survenue de l'infection [2].

Au sein d'un hôpital, plusieurs sources jouent un rôle dans l'apparition des transmissions croisées. Outre le patient infecté/colonisé, qui constitue la source la plus importante et le prestataire de soins porteur transitoire, l'environnement hospitalier peut également être à l'origine de la transmission de micro-organismes qui contribuent insidieusement à la contamination progressive des divers supports inertes de l'environnement. Certains de ces micro-organismes sont à l'origine d'infections

associées aux soins chez les patients vulnérables dans les établissements de santé [47].

Les milieux de l'environnement (air, surfaces, eau) présentent une contamination microbiologique permanente mais variable dans le temps et dans l'espace [47]. L'environnement peut être à la fois émetteur d'un agent infectieux (de l'environnement à la personne soignée) ou récepteur (de la personne soignée à l'environnement). En effet, la chaine épidémiologique de transmission est caractérisée par un réservoir émetteur et un réservoir récepteur des agents infectieux reliés par un mode de transmission (Figure 1.1) [47].

La répartition de la contamination des surfaces se fait le plus souvent de manière hétérogène et possède trois origines :

- Air qui véhicule sous forme d'aérosols des amas bactériens qui sont capables de sédimenter et de coloniser le milieu [48].
- Contact des patients infectés par des surfaces inertes contaminées par les bactéries multi-résistantes. Cette contamination peut persister des heures, voire des semaines sur des surfaces sèches. Le personnel médical, les travailleurs et d'autres patients peuvent être contaminés par contact direct avec ces surfaces qui par la suite deviendront un réservoir de microorganismes [49].
- Eau qui contamine les surfaces et les dispositifs médicaux [50].

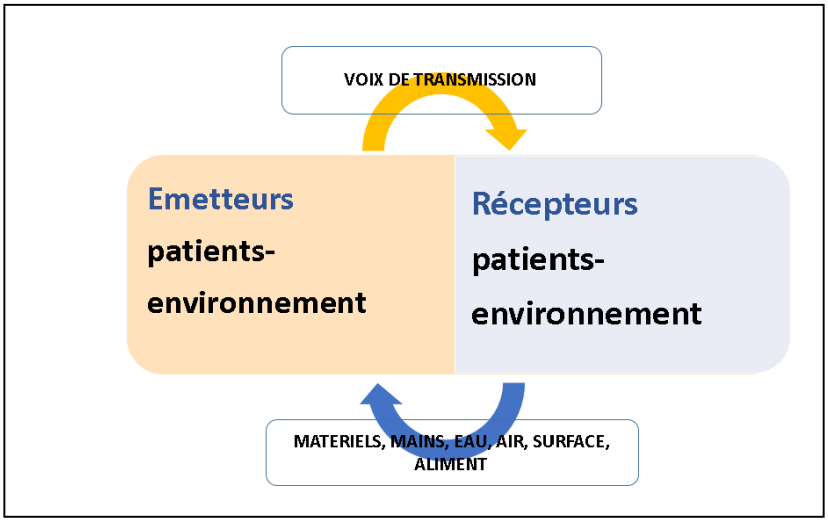

Figure 1.1: Chaine épidémiologique de transmission d'un agent infectieux [51].

Les microorganismes responsables des infections nosocomiales peuvent persister sur des surfaces sèches inanimées pendant plusieurs mois (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Persistance des bactéries d'origine clinique sur les surfaces sèches inanimées [52].

Bactéries	**Durée de persistance**
Acinetobacter spp.	3jours à 5 mois
Klebsiella spp.	2 heures à >30mois
Pseudomonas aeruginosa	6 heures à 16 mois
Escherichia coli	90 minutes à 16 mois
Proteus vulgaris	1 à 2 jours
Serratia marcescens	3 jours à 2 mois
Clostridium difficile (spores)	5 mois
Chlamydia psitattaci	15 jours
Corynebacterium diphteriae	7 jours à 6 mois
Mycobacterium bovis	> à 2 mois
Mycobacterium tuberculosis	1 jour à 4 mois
Staphylococcus aureus incluant SARM	7 jours à 7 mois
Streptococcus pneumoniae	1 à 20 jours
Streptococcus pyogenes	3 jours à 6.5 mois

Selon le risque infectieux, les locaux hospitaliers sont classés en quatre zones (Tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Zones à risque à l'hôpital [53].

1	**2**	**3**	**4**
Risques minimes	**Risques moyens**	**Risques sévères**	**Très hauts risque**
Halls **Bureaux** **Services administratifs** **Services techniques** **Maison de retraite** **Résidence pour personnes âgées**	Circulations Ascenseurs Escaliers Salles d'attente Consultation externe Salle de rééducation fonctionnelle Maternité Unité d'hébergement pour personnes âgées Services long et moyen séjour Psychiatrie Stérilisation centrale (zone lavage) Pharmacie Blanchisserie Sanitaires	Salle de « petite chirurgie » Pédiatrie Chirurgie Médecine Hémodialyse Radiologie Laboratoires Exploration fonctionnelle Salle d'autopsie	Néonatologie Bloc opératoire Service de greffe Service de brûlés
		Imagerie médicale interventionnelle Oncologie Oncohématologie Hématologie Hémodynamique	

La propagation des BMR selon les services et leurs particularités est mentionnée ci-dessous (Tableau 1.3)

Tableau 1.3 : Localisation des BMR en milieu hospitalier [54].

Services	Particularités
Réanimation, soins intensifs	Forte incidence en BMR car : - Prescription importante d'antibiotiques - Technicité développée, procédures invasives, charge en soins importante
Services de court séjour : médecine, chirurgie, obstétrique	-Transferts internes - Transferts entre établissements de santé médicaux et sociaux - Technicité développée, procédures Invasives
Services de soins de suite et de Rééducation	Nécessité de rééducation collective (repas, activités) - Poly pathologies
Long séjour, MAS, EHPAD, Psychiatrie,	- Charge en soins élevée -Poly pathologies des patients et troubles du comportement - Faible ratio personnel / malade - Nécessité de rééducation

1.2. Bactéries Gram négatives multi résistantes hospitaliers

Acinetobacter, *Pseudomonas* et diverses entérobactéries dont *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, et *Proteus*), sont dans la catégorie des agents pathogènes prioritaires pour la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques proposé par l'organisation mondiale de la santé, Elle met plus particulièrement en avant la menace des bactéries à Gram négatif résistantes à de nombreux antibiotiques. Elles ont des capacités à résister aux traitements et peuvent transmettre le matériel génétique permettant à d'autres bactéries de devenir elles aussi résistantes [55].

1.2.1. Enterobacteriaceae

Ces microorganismes sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité et de leur écologie. Ils se retrouvent partout principalement dans l'intestin des humains et des animaux mais également sur le sol et dans l'eau [56]. Un large éventail de genres et d'espèces y sont inclus, leur classification est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 1.4 : Classification des entérobactéries [57].

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine	*Bacteria.*
Embranchement	*Proteobacteria*
Classe	*Gammaproteobacteria.*
Ordre	*Enterobacteriales*
Famille	*Enterobacteriaceae.*

Ce sont les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les pathologies infectieuses humaines, surtout en milieu hospitalier, en raison de leur abondance dans l'intestin, de leur mobilité, de leur rapidité de multiplication et de l'acquisition fréquente des mécanismes de résistance aux antibiotiques. En bactériologie clinique, les bactéries les plus couramment isolées sont : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (Tableau 1.5) [56].

Tableau 1.5 : Classification des entérobactéries les plus rencontrés en pathologie humaine [58].

Groupe	Genre	Espèce
Groupe I	*Salmonella*	*Salmonella typhi* *Salmonella paratyphi* *Salmonella entertidis*
Groupe II	*Escherichia*	*Escherichia coli*
	Shigella	*Shigella dysenteriae* *Shigella flexnerti* *Shigella boydii* *Shigella sonnei*
	Citrobacter	*Citrobacter freundi*
Groupe III	*Klebsiella*	*Klebsiella pneumoniae* *Klebsiella oxytoca*
	Enterobacter	*Enterobacter aerogenes* *Enterobacter cloaca*
	Serratia	*Serratia marcescens*
	Hafnia	*Hafnia Alvei*
	Morganella	*Morganella morganii*
Groupe IV	*Proteus*	*Proteus mirabilis* *Proteus vulgaris*
	Providencia	*Provdencia alcalifaciens* *Providencia rettgeri*
Groupe V	*Yersinia*	*Yersinia enterolitica* *Yersinia pseudotuberculosis*

1.2.1.1. Caractères bactériologiques

Caractères morphologiques

Les entérobactéries sont généralement polymorphes et mesurent entre 2 et 3 microns de long et 0,6 microns de large [59]. Les *Klebsiella* sont capsulées. Grâce à leur ciliature péritriche, la plupart des Entérobactéries sont mobiles. Certaines sont immobiles, comme *Klebsiella* et *Shigella*. Les fimbriae ou les pili sont des facteurs d'adhésion des espèces pathogènes pour l'homme [60].

- **Caractères antigéniques :**

L'étude des différents caractères antigéniques permet de classer en sérotypes les souches appartenant à une même espèce ou au même genre. Les Entérobactéries possèdent différents types d'antigènes [61]. Les principaux sont :

- **Antigènes O ou somatiques :** correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS), ils sont thermostables et résistent à l'alcool
- **Antigènes H ou antigènes flagellaires :** n'existent que chez les souches mobiles.
- **Antigène K :** antigène capsulaire
- **Antigène de Kunin ou (ECA) :** constitué d'un glycophospholipide spécifique des entérobactéries.
- **Antigènes d'adhérence ou adhésines :** de nature protéique, portés par des pili communs [61].

- **Caractères culturaux**

En milieu aéro-anaérobie, les entérobactéries se développent rapidement in vitro. La température de croissance idéale est de 37°C, mais la culture peut se produire entre 20 et 40°C. Leurs besoins en nutriments sont généralement réduits et la majorité d'entre eux se multiplient en milieu synthétique avec une seule source de carbone, le glucose. Les colonies d'entérobactéries sur milieux gélosés sont généralement lisses, brillantes et de structure homogène. Ces caractéristiques peuvent évoluer après des cultures successives pour produire des colonies à surface sèche et rugueuse (type "rough" ou R) [59].

- **Caractères biochimiques**

La distinction entre les genres et les espèces se fait par l'étude des caractères biochimiques que sont l'utilisation du citrate de Simmons comme seule source de carbone, la production d'uréase, la capacité à fermenter le glucose, la capacité à réduire les nitrates en nitrite, la fermentation du lactose, la production d'indole, la production d'acetoïne, la désamination du tryptophane [61].

1.2.1.2. Pouvoir pathogène et virulence

Les entérobactéries ont un pouvoir pathogène important chez l'homme où elles peuvent affecter les personnes immunodéprimées, en particulier celles qui sont hospitalisées. De nombreuses infections nosocomiales sont causées par les entérobactéries [61] [62].

L'expression de facteurs de virulence dont les gènes sont le plus souvent situés sur les plasmides. On peut distinguer :

- **Fimbriae**, qui permettent à la bactérie d'adhérer aux cellules (urinaires, entérocytes), sont appelées antigènes d'adhésion ou adhésines. La pathogenèse des infections causées par les bactéries entériques nécessite l'adhérence, qui est une étape cruciale [63].
- **Capsule :** les sérotypes de l'antigène K 77 ont été identifiés en fonction de la spécificité des polysaccharides capsulaires. Plusieurs études ont montré que l'hyperglycémie semble favoriser la formation de la capsule et donc la virulence du germe. La capsule est un facteur de virulence de *Klebsiella* et d'autres souches d'*E. coli* [64].
- **Endotoxine et exotoxine :** Certains types de toxines sont similaires à ceux des Shigelles et d'autres à ceux du Vibrion cholérique. *K. pneumoniae* du type capsulaire 15, a été capable de produire une exotoxine de type thermolabile (LT) et a été isolée de la viande et des selles des malades [65].
- **Sidérophores :** la majorité des bactéries pathogènes ont développé des systèmes de captation du fer car le fer joue un rôle important dans la croissance et la multiplication des bactéries. Les sidérophores enterobactine, aerobactine et yersiniabactine peuvent être synthétisés par les souches de *K. pneumoniae* [66].

Pour la suite de l'étude, il semble nécessaire de rappeler brièvement quelques caractères de certaines entérobactéries fréquemment rencontrées en pathologie humaine et qui posent un réel problème de résistance.

- ***Escherichia***

Escherichia coli est une espèce commensale. Cependant elle peut également être un pathogène opportuniste ou un pathogène obligatoire du fait de l'expression de

facteurs de virulence spécifiques. Les souches pathogènes opportunistes ou obligatoires ont développé différents modes d'interaction avec leur hôte se traduisant par des signes cliniques variés [67]. Souvent responsable de gastroentérites graves pouvant être mortelles dans certains cas en l'absence de traitement. Elle est également incriminée dans les infections urinaires (80 % des infections urinaires), génitales, dans les méningites et dans diverses suppurations [68].

- ***Klebsiella***

Six espèces de *Klebsiella* sont usuellement reconnues. Quatre espèces ont un pouvoir pathogène pour l'homme : *K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ozaenae et. K. rhinoscleromatis* et deux espèces sont retrouvées dans l'environnement et sont rarement pathogènes : *K. terrigena et K. planticola*. Les espèces les plus fréquemment rencontrées sont *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*. Elles sont isolées souvent des eaux, du sol et des végétaux. Ces espèces sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires [61].

En général, les *Klebsiella* sont des germes opportunistes chez les patients vulnérables qui peuvent causer des infections urinaires, des pneumopathies et des septicémies [69].

K. pneumoniae est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères [70].

- ***Enterobacter***

Ils se rencontrent souvent dans le sol et dans l'eau et peuvent se loger dans les intestins de l'homme et des animaux [71].

Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *E. cloacae* et *E. aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intraabdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites [72].

❖ ***Serratia***

Les espèces du genre *Serratia* sont ubiquitaires et se retrouvent dans le tube digestif de l'homme, des rongeurs ainsi que dans le sol, l'eau, mais aussi dans l'environnement hospitalier (sols, air, eau ou siphons des éviers) et le matériel médical [73].

Les *Serratia* sont responsables d'infections hospitalières parfois épidémiques, en particulier *Serratia marcescens*. La localisation de l'infection dépend du service hospitalier [61]. Elle touche le personnel hospitalier ou les patients au niveau de certaines muqueuses telles que le nez, la gorge et le tube digestif [74] [75].

❖ ***Citrobacter***

Citrobacter freundii est un bacille ou des coccobacille mobile qui fait partie du genre *Citrobacter* et peut être anaérobique. Il mesure entre 0,3 à 1 mm de diamètre et 0,6 à 6 mm de long [76]. Ce sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares qui provoquent généralement des pneumonies et d'autres infections néonatales, telles que la méningite, le sepsis néonatal, l'infection articulaire et la bactériémie. Les infections des voies urinaires, les bactériémies, les sepsis abdominaux et les abcès cérébraux sont également fréquemment causées par *C. freundii* [77] [78].

❖ ***Proteus***

Proteus est l'un des principaux agents pathogènes de l'appareil urinaire humain chez les patients hospitalisés. Ces infections urinaires peuvent donner lieu à des bactériémies hautement mortelles et qui sont difficiles à traiter et souvent fatale. Largement répandus dans l'environnement naturel, y compris l'eau polluée, le sol et le fumier, on les rencontre aussi dans la viande putride et les abcès [79].

Proteus mirabilis a la capacité de s'allonger et de sécréter un polysaccharide lorsqu'elle est en contact avec des surfaces solides, ce qui la rend extrêmement mobile sur des éléments tels que l'équipement médical.

❖ ***Hafnia***

Ce genre est formé d'une seule espèce, *Hafnia alvei*, antérieurement désignée comme *Enterobacter alvei*. *H. alvei* cause principalement les gastro-entérites, les

infections opportunistes, les septicémies, les méningites, les péritonites, les pneumonies et les infections urinaires [80].

1.2.2. Bacilles à Gram négatif non fermentant nosocomiale (BGNnF)

Les BGNnF ont un métabolisme respiratoire strict (utilisation de l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons). Ainsi, certains genres peuvent utiliser les nitrates comme accepteur terminal d'électrons en anaérobiose [81].

Ces bactéries sont ubiquitaires retrouvées dans l'environnement (sol, eau...) et peuvent causer des infections cliniques. Bien qu'elles puissent être isolées des infections communautaires, elles sont le plus souvent responsables des infections nosocomiales, ce qui les rend pathogènes opportunistes. En plus de la famille *Pseudomonadaceae*, les BGNnF incluent *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Kingella*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Bordetella*, *Flavobacterium* et *Sphingobacterium* [82].

Les bactéries les plus fréquemment isolées lors d'infections nosocomiales sont *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia* au sein de la famille des *Pseudomonadaceae* [82].

1.2.2.1. Pseudomonas aeruginosa

Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des *Pseudomonadaceae*, l'ordre des *Pseudomonadales,* la classe des *Gammaprotobacteria*, division des *Proteobacteria*, embranchement des *Procaryotes* et règne des *Bacteria* [83].

Ce sont des bacilles Gram-négatifs, non sporulés, qui sont généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires. Ils sont aérobies [84].

C'est une bactérie opportuniste qui vit généralement en état saprophyte dans l'eau, les sols humides et les végétaux, mais peut également vivre en état commensale sur la peau ou dans le système digestif de divers animaux [84].

Les bacilles de cette espèce ont un diamètre de 0,5 à 0,8 µm et une longueur de 1,5 à 3,0 µm. Les cellules sont mobiles grâce à une ciliature monotriche, mais quelques rares cellules ont plusieurs flagelles polaires [81].

1.2.2.1.1. Caractères bactériologiques

- **Caractères culturaux**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie qui se reproduit facilement dans des milieux synthétiques. Elle pousse facilement en 2 heures à 37°C et peut se développer à des températures variables (5 à 42 °C, l'optimum étant 30 °C), mais elle peut supporter de moindres variations de pH (6.5 à 7.5, l'optimum étant 7.2) [85].

Ce sont des bactéries aérobies strictes, utilisent les nitrates comme accepteurs d'hydrogène pour respirer, donc elle se développe dans toute la hauteur du tube dans des milieux anaérobies contenant des nitrates [85].

- **Caractères biochimiques**

Le métabolisme de *P. aeruginosa* réduit généralement les nitrates au-delà des nitrites et produit de l'ammoniac à partir de la dégradation de l'acétamide [69] [86].

Elle donne des réponses positives aux tests suivants :

- Lysine décarboxylase (LDC)
- Ornithine décarboxylase (ODC)
- Indole, galactosidase (quelques souches hydrolysent l'ONPG à l'aide d'une enzyme différente de la galactosidase)
- Oxydase

Et des réponses négatives aux tests suivants :

- Catalase
- Arginine d'hydrolase (ADH)
- Citrate de Simmons
- Gélatinase [69] [86].

P. aeruginosa produit deux types de pigments (fluorescents ou non) facilement identifiables sur les milieux de King B et King A qui sont :

- **Pyoverdine :** C'est un pigment fluorescent jaune-vert soluble dans l'eau mais insoluble dans le chloroforme [69].
- **Pyocyanine** : C'est un pigment bleu-vert non fluorescent quiest soluble dans l'eau et le chloroforme et est produit exclusivement par *P. aeruginosa* [69].

- **Caractères antigéniques**

Le complexe antigénique de *P. aeruginosa* est constitué d'une fraction polyosidique (polysaccharidique) qui détermine la spécificité de l'antigène et d'une fraction protéinique qui crée l'antigène somatique O thermostable. Selon la classification de l'IATS (International Antigenic Typing System), le sérotypage des souches permet de distinguer 16 sérotypes différents grâce à des antisérums dirigés contre cet antigène.

Les antigènes O:1 à O:11 sont les plus fréquents ; le sérotype O:12 est le plus résistant aux antibiotiques et est fréquemment accusé d'infections nosocomiales . Il y a également un antigène flagellaire H qui est thermolabile permettant un typage qui, en tandem avec un typage O, permet de reconnaître au moins 25 sérovars [87].

1.2.2.1.2. Pouvoir pathogène et virulence

P. aeruginosa se place parmi les agents étiologiques majeurs impliqués dans les infections nosocomiales. Responsables des 20,6 % des bronchopneumopathies, 15,4 % des infections de la peau et des tissus mous, 9 % des infections du site opératoire, 7,8 % des infections urinaires et 6,4 % des bactériémies. En réanimation et unités de soins intensifs, les patients, souvent immunodéprimés, sont habituellement intubés, ventilés, sondés et porteurs de cathéters périphériques et centraux sont souvent contaminés par *P. aeruginosa* [88] [89].

P. aeruginosa est doté d'un véritable arsenal de facteurs de virulence qui sont, soit directement associés à sa cellule (flagelle, pili, LPS, alginate), soit excrétés dans le milieu extracellulaire (exotoxines, exoprotéases, hémolysines et chromophores) [90].

1.2.2.2. Acinetobacter baumannii

Le genre *Acinetobacter* appartient actuellement au domaine des *Bacteria*, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Pseudomonodales* et est classé dans la famille des *Moraxellaceae* [91].

C'est un bacille ou coccobacille Gram négatif, aérobies stricts, non fermentant, catalase positive, oxydase négative, immobile. Certaines souches sont capsulées, ubiquitaire et peuvent être isolées à partir de l'environnement (sols, eaux) [92] .

1.2.2.2.1. Caractères bactériologiques

- **Caractères culturaux**

A. baumannii est une bactérie qui se développe facilement sur des milieux habituels tels que la gélose trypticase soja ou la gélose au sang à 44°C, ce qui la distingue des autres espèces d'*Acinetobacter* (même si ellle partage cette caractéristique avec *A. nosocomialis*) [93].

Cette bactérie peut présenter deux types de colonies distincts : des colonies muqueuses de couleur blanche-grise qui se forment sur la boîte par les souches capsulées, ou des colonies non muqueuses, d'aspect rugueux lisse, de couleur blanche-grise et de taille plus petite par les souches non capsulées [93].

- **Caractères biochimiques**

Les *Acinetobacter* sont des bactéries qui ont des réactions de catalase positive et d'oxydase négative et n'ont pas la capacité de métaboliser les sucres par les voies fermentaires. De plus, la plupart des examens biochimiques utilisés dans le domaine de la bactériologie clinique sont négatifs, notamment l'indole, la réduction des nitrates en nitrites, la décarboxylase pour la lysine (LDC), la décarboxylase pour l'ornithine (ODC), la production d'hydrogène sulfuré (H_2S), la bêta-galactosidase et la DNase. Les tests de l'uréase, l'hydrolyse de la gélatine ou la phénylalanine désaminase (PAD) donnent quant à eux des réponses variables [91] [94].

- **Caractères antigéniques**

La capacité hydrophobe de la bactérie lui permet de se fixer à des matériaux étrangers, comme les plastiques utilisés dans les dispositifs intravasculaires.

Il a été démontré que, par rapport à la flore normale de la peau, les souches isolées de patients ont une capacité plus forte de l'adhésion aux surface [95].

La protéine de membrane externe A (OmpA) est associée à une amélioration de l'adhésion, en particulier aux cellules épithéliales des voies respiratoires. *A. baumannii* échappe à l'élimination induit par la voie du complément alternatif en neutralisant le facteur H, principal régulateur de la voie alternative en complément, à l'aide de l'OmpA. Les vésicules de la membrane externe augmentent également la formation de biofilm sur les surfaces abiotiques. Les lipopolysaccharides (LPS) de *A. baumannii* sont

constitués d'un antigène O, le noyau d'hydrate de carbone et un fragment de lipide A. Les LPS sont un agent chimiotactique qui recrute des cellules inflammatoires et les oblige à libérer leur matériel cytotoxique [95].

1.2.2.2.2. Pouvoir pathogène et virulence

Depuis quelques années, ce germe est considéré comme un agent infectieux opportuniste qui provoque des infections nosocomiales chez les personnes vulnérables telles que les personnes immunodéprimées, les grands brûlés et les personnes âgées. Sa résistance aux antibiotiques et à la dessiccation favorise sa dissémination. En milieu hospitalier essentiellement dans les unités de soins intensifs et de chirurgie [96]

A. baumannii provoque le plus souvent des pneumopathies, en particulier chez les patients qui sont sous ventilation mécanique. Il peut également être la cause d'infections bactériennes et plus rarement d'infections des tissus mous et de la peau, d'infections urinaires, de méningites, d'endocardites, de kératites et d'endophtalmies. La durée de séjour en réanimation augmente en raison des infections à *A. baumannii*.

En 2007, six études cas-témoins révèle l'existence d'un lien entre les infections à *A. baumannii* et une mortalité accrue, indépendamment d'autres facteurs de risque [97].

Selon (JolyGuillou et Bergogne-Bérézin, 2006) [98], certaines caractéristiques peuvent accroître la virulence des souches impliquées dans les infections et comprennent :

- Slime, composé de polysaccharides de surface, produit au cours de la phase de croissance exponentielle. Il inhibe la migration des neutrophiles et possède un pouvoir toxique pour les cellules,
- Lpopolysaccharide (LPS) impliqué dans le choc septique endotoxinique,
- Capsule polysaccharidique responsable de la résistance à la phagocytose,
- Production d'enzymes qui peuvent endommager les lipides tissulaires,
- Capacité de former des biofilms (sur des surfaces biotiques et abiotiques) lui permet de croître dans des conditions d'environnement défavorables,
- Fimbriaes responsables de l’adhérence à l’épithélium bronchique et gastrique,
- Protéines de membrane externe à l’origine de réponse inflammatoire.

1.2.2.3. Burkholderia cepacia

Jusqu'en 1992, la bactérie était identifiée sous le nom de *Pseudomonas cepacia*. C'est une bactérie ubiquitaire qui peut être retrouvée dans le sol, les boues, les sédiments, la rhizosphère et la phyllosphère, ainsi que dans l'eau des ruisseaux. Elle est également présente dans les aliments qui peuvent avoir des effets phytopathogènes. *B. cepacia* est présente dans les prélèvements d'air à partir des hôpitaux et sur les surfaces contaminées par des gouttelettes respiratoires [99] [100].

1.2.2.3.1. Caractères bactériologiques

C'est un bacille droits non sporulant, mobile grâce à un seul flagelle polaire ou à une touffe de flagelles polaires[101].

Les caractéristiques clés d'identification de *B. cepacia* sont les suivantes :

Oxydase (+), ADH (+), glucose (+), lactate (+), poly-β-hydroxybutyrate (PHB) (+), LDC (+), ONPG (+), réduction du NO3 (-), esculinase (-), gélatinase (-), maltose (-) et mannitol (-) [102].

1.2.2.3.2. Pouvoir pathogène et virulence

B. cepacia peut causer diverses IN chez l'homme, principalement chez les personnes immunodéprimées, et colonisation/infection pulmonaire chez les personnes atteintes de mucoviscidose. Dans ce contexte, les infections à *B. cepacia* peuvent être très graves, entraînant une détérioration générale et même un décès rapide. La contamination du matériel de ventilation est la principale cause [103].

1.2.2.4. Stenotrophomonas maltophilia

C'est une espèce ubiquitaire et saprophyte de l'environnement, mais également de l'homme colonisant surtout le nez, la gorge et le tube digestif [104]. Dans l'environnement hospitalier, sa présence est liée aux eaux contaminées : eau du robinet ou distillée, siphons d'évier, nébuliseurs, respirateurs, humidificateurs, bains de dialyse, surfaces humides, solutions antiseptiques et désinfectants dilués par de l'eau contaminée [104].

1.2.2.4.1. Caractères bactériologiques

Stenotrophomonas maltophia est un bacille aérobie strict, assez fin, de longueur moyenne (de 0,5 à 0,8 µm sur 1,5 à 3 µm) polymorphe avec une ciliature polaire multitriche [105]. De taille légèrement inférieure à celle des autres espèces du genre *Stenotrophomonas*. Elles poussent sur tous types de milieux à 37°C. Les colonies sont rondes, lisses, non hémolytiques. Elle se développe bien sur la gélose MacConkey et produit des colonies pigmentées [61].

S. maltophilia est catalase positive, généralement oxydase négative. Les caractéristiques biochimiques de *S. maltophilia* sont : Catalase +, oxydase –, LDC, esculine, gélatine, Dnase, ONPG positifs, Indole, urée négative. Oxydation des sucres : glucose, lactose, maltose +, mannitol - [61].

1.2.2.4.2. Pouvoir pathogène

S. maltophilia est devenue un pathogène nosocomial important dans les environnements cliniques [106]. Il est responsable de diverses maladies infectieuses et de décès chez les patients hospitalisés, en particulier chez les personnes immunodéprimées, chez les patients hospitalisés et les porteurs d'implants médicaux [107].

Ces bactéries colonisent fréquemment les liquides d'irrigation des patients, tel que les solutions d'irrigation, les fluides intraveineux et les fluides corporels des patients (aérosols respiratoires ou mucosités, urine et exsudats de plaies) [108].

On le considère donc comme un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales difficiles à traiter car la bactérie est multirésistante aux antibiotiques. Les facteurs de virulence de *S. maltophilia*, encore peu connus, contribueraient à son implantation et à sa diffusion dans les sites colonisés (plaies, cathéters, appareil respiratoire) [61].

1.3. Biofilms bactériens

1.3.1 Formation des biofilms

En premier temps, des forces d'attraction physico-chimiques interviennent lorsque les bactéries sont au voisinage d'une surface, ce qui entraîne une interaction réversible (Figure1.2). Ensuite, à mesure que les cellules se divisent, le nombre de

bactéries associées à la surface augmente et l'adhésion devient irréversible. La synthèse de structures à la surface de la bactérie accompagne cette transition vers une adhésion irréversible et une profonde modification du profil d'expression des gènes. Les polysaccharides extracellulaires sont alors produits par des amas de bactéries à la surface. La formation de microcolonies composées à la fois de bactéries initiales qui se divisent et de bactéries qui s'attachent au biofilm en formation marque la troisième étape [112].

Finalement, le stade de maturation représente le développement des microcolonies et la structuration du biofilm. Les microcolonies se développent en piliers d'épaisseur variable au sein desquels les cellules sont englobées dans la matrice extracellulaire. Les canaux de biofilm qui séparent les microcolonies permettent aux fluides nutritifs de circuler. Certaines bactéries peuvent se détacher du biofilm mature et retourner à la phase de dissémination. Cette étape finale permet la colonisation de nouvelles zones [113].

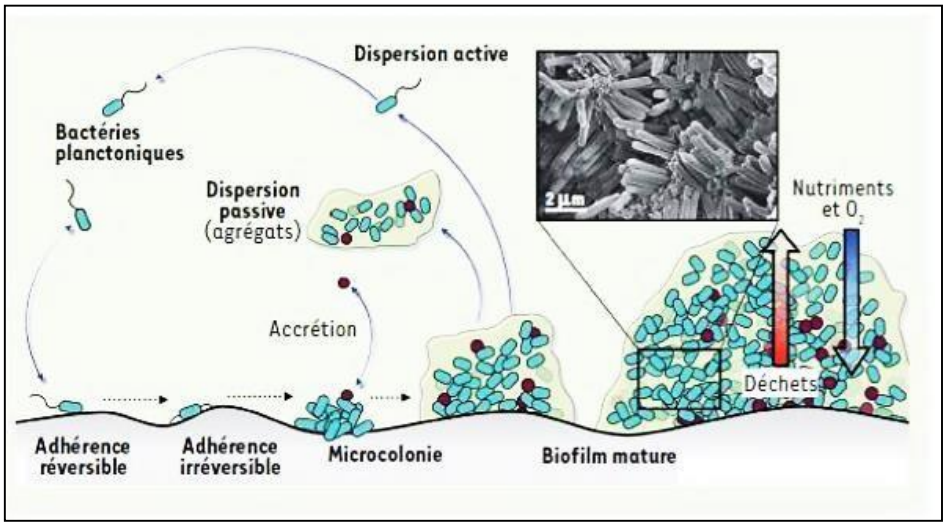

Figure1.2 : Etapes de formation du biofilm bactérien [112].

1. 4. Emergence et propagation de la résistance

L'administration répétée d'antibiotiques au niveau hospitalier provoque une pression de sélection qui favorise les mutations et les échanges plasmidiques, responsables de l'acquisition de résistances aux antibiotiques. En conséquence, les bactéries sensibles sont éliminées, laissant place aux bactéries résistantes.

Par conséquent, la résistance aux antibiotiques se développe à grande échelle au cours des étapes suivantes :

- Sélection d'organismes résistants.
- Elimination de la flore sensible au médicament et colonisation avec des microorganismes résistants.
- Contact d'une personne à l'autre et transmission dans l'environnement
- Transmission globale [114].

1.5. Antibiotiques et antibiorésistance

1.5.1. Antibiotiques

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter les cellules humaines [115]. Ils peuvent avoir deux modes d'action :

- **Action bactériostatique :** Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbiens.
- **Action bactéricide :** Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines [116].

Les antibiotiques peuvent agir sur cinq parties différentes de la structure de la bactérie (figure 1.3) :

- La paroi bactérienne.
- La membrane cytoplasmique.
- L'ARN des ribosomes.
- L'ADN bactérien.
- Inhibiteurs du métabolisme intermédiaire.

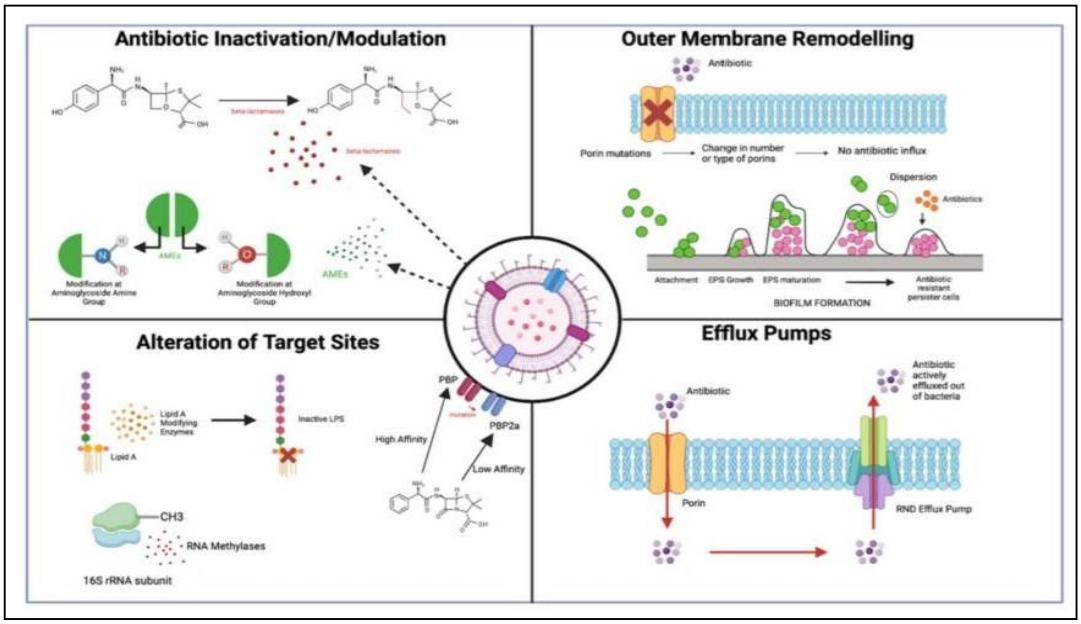

Figure 1.3 : Cible thérapeutique des antibiotiques [117].

Les principales familles d'antibiotiques sont :

- **Béta-lactamines**

Les béta-lactamines sont des molécules qui ont un anneau béta-lactame commun à tous les antibiotiques de cette famille. Leur structure est construite autour d'un cycle béta-lactame, indispensable à leur activité. On distingue plusieurs familles en fonction de la nature du cycle qui lui est accolé :

- Pénames (cycle à 5 sommets dont un soufré) : toutes les pénicillines
- Clavames (cycle à 5 sommets dont un oxygéné) : inhibiteurs de ß-lactamases
- Carbapénèmes (cycle insaturé à 5 sommets carbonés) : Imipenème et produits apparentés
- Céphèmes (cycle insaturé à 6 sommets dont un soufré) : céphalosporines oxacéphème analogue aux céphalosporines de troisième génération [118].

La famille des béta-lactamines est répartie en quatre principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes [119].

Leur mécanisme d'action est le suivant :

- Pénétration jusqu'à la membrane cytoplasmique
- Fixation aux pénicilles binding protéines qui sont des protéines localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et dont certaines ont une activité de

carboxypeptidase d'endopeptidase ou de transpeptidase et sont impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane.

- Inhibition de la transpeptidation
- Activation des autolysines
- Mort cellulaire accompagnée souvent de lyse cellulaire [116].

Aminosides

Ce sont des substances très polaires avec un groupement cationique sur un anneau inositol et un ou plusieurs sucres aminés. Les aminoglycosides possèdent des effets multiples sur la cellule bactérienne. Toutefois, leur cible principale est le ribosome dont ils perturbent le fonctionnement. Ils se fixent sur la sous-unité 16 S pour y perturber la lecture des codons de l'ARN messager. Comme exemple, la streptomycine se lie sur au moins trois de ces protéines et sur l'ARN 16 S. D'autres aminosides se fixent aussi sur la sous-unité 50 S, il en résulte des perturbations de la fonction ribosomale, avec blocage de l'initiation de la synthèse protéique, blocage de la traduction et terminaison prématurée ou encore incorporation anarchique d'aminoacides [120].

Tétracyclines

Les tétracyclines empêchent les amino-acyl-ARN de se fixer sur le site A du ribosome. Ils bloquent la synthèse protéique en se fixant à la fraction 30S des ribosomes bactériens, ce qui a un effet bactériostatique. De plus, ils modifient la membrane cytoplasmique, ce qui empêche la réplication de l'ADN par perte de nucléotides [121].

Quinolones

Ces antibiotiques agissent à différentes étapes de la synthèse de l'acide nucléique et empêchent la réplication de l'ADN. Ces molécules hydrophiles inhibent les topoisomérases de type II (ADN gyrase) et IV empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication [122].

Ces molécules interagissent avec le complexe ADN-ADNgyrase en formant un complexe ternaire ADN-ADNgyrase-quinolone. Elles bloquent le changement conformationnel de l'enzyme. Ainsi, l'ADN serait stabilisé au moment de la coupure et ne pourrait être religaturé [123].

- **Phénicols**

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique à large spectre. Le thiamphénicol est très voisin chimiquement au chloramphénicol. Son spectre d'action est similaire. Il possède une action sur les bactéries Gram positifs et les cocci à Gram négatifs [124].

- **Sulfamides**

Ce sont des inhibiteurs enzymatiques de la biosynthèse de l'acide tétrahydro folique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques constitutives de l'ADN bactérien. Les sulfamides agissent comme des homologues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB), une molécule qui sert de base à la synthèse des folates. Par conséquent, ils bloquent la dihydropteroate-synthétase (DHPS), qui est responsable de la première réaction de cette chaîne métabolique, par une inhibition compétitive. La réduction de l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique est facilitée par l'inhibition de la dihydrofolate-réductase (DHFR) par les diamino pyrimidines, également connues sous le nom de triméthoprime [116].

- **Macrolides**

Ce sont des inhibiteurs de la peptidyl-transférase qui permet l'élongation de la chaîne peptidique au niveau de la sous unité 50S du ribosome durant le dernier stade de la synthèse des protéines. Ils empêchent ainsi la réunion des deux sous unités par une inhibition compétitive [121].

- **Rifamycines**

Ces produits bloquent la transcriptase, une polymérase ADN dépendante de l'acide ribonucléique (ARN), ce qui inhibe la synthèse de l'ARNm. Ils inhibent la synthèse protéique. En fixant les deux sous-unités bêta, elles empêchent l'initiation et l'élongation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN [125].

- **Polymyxines**

Ces antibiotiques ne sont actifs que sur les bactéries Gram négatif [126]. Les polymyxines, dont le représentant le plus connu est la colistine, ont la capacité de détruire la membrane cytoplasmique après avoir désorganisé la membrane externe des bactéries Gram négatif, ce qui entraîne l'éclatement de la bactérie [127].

1.5.2. Résistance et multirésistance bactérienne

Une bactérie est résistante à un antibiotique lorsque sa concentration au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour empêcher la bactérie de se multiplier ou de l'éliminer [128]. Autrement, si sa CMI est supérieure à la concentration d'antibiotique (non toxique) obtenue lors du traitement [129].

Une souche bactérienne multirésistante se définit comme résistante *in vitro* à plus de trois familles d'antibiotiques [130].

On classe habituellement les bactéries multirésistantes en trois catégories :

- **MDR** (Multi Drug Resistant) sont des bactéries multirésistantes à trois ou quatre groupes d'antibiotiques.
- **XDR** (Extensively Drug Resistant = bactéries hautement résistantes) résistent à tous les antibiotiques exceptés un ou deux.
- **PDR** (Pan Drug Resistant = bactéries ultrarésistants) résistantes à tous les antibiotiques [131].

Les types de résistances aux antibiotiques sont :

- **Résistance naturelle ou intrinsèque :** C'est un caractère présent chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action de l'antibiotique [116].
- **Résistance acquise :** Elle concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre aux autres souche. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité de la molécule qui lui était fatale. Elle peut se faire soit par mutation génétique ou par acquisition des gènes transférables d'un autre microorganisme [116].
- **Résistance croisée :** Tous les antibiotiques d'une même famille sont soumis à un seul mécanisme de résistance. Des mutations dans les topoisomérases type II, gérasse ou topoisomérases IV peuvent entraîner une résistance à toutes les fluoroquinolones, ce qui est l'un des nombreux cas de résistance croisée [116].
- **Co-résistance :** Chez la même bactérie, plusieurs mécanismes de résistance sont liés, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. La résistance

croisée d'un groupe d'antibiotiques donne à la bactérie un large spectre de résistance [6].

1.5.2.1. Support génétique de la résistance bactérienne aux antibiotiques

- **Résistance chromosomique**

Cette résistance est causée par une mutation et n'est pas provoquée par la présence de l'antibiotique, qui sélectionne les bactéries mutantes résistantes et révèle la mutation de résistance [132].

- **Résistance extra-chromosomique**

Les bactéries peuvent développer une résistance aux antibiotiques grâce à la présence de trois types d'éléments extra-chromosomiques transportant des gènes de résistance : les plasmides, les cassettes et les transposons. Les cassettes sont des éléments mobiles qui peuvent être intégrés ou excisés par un système spécifique de recombinaison de site médié par une intégrase. Les intégrons ne peuvent pas se déplacer de manière autonome et sont généralement transportés par des plasmides ou des transposons [133].

Les trois principaux mécanismes de transfert horizontal d'éléments génétiques entre les bactéries de la même espèce ou d'une même espèce et de genres différents sont les suivants : la conjugaison (transfert direct entre deux bactéries ayant établi temporairement un contact physique), la transformation (transfert acide désoxyribonucléique (d'ADN) nu) et la transduction (transport d'ADN bactérien par des bactériophages) (Figure 1.4) [134].

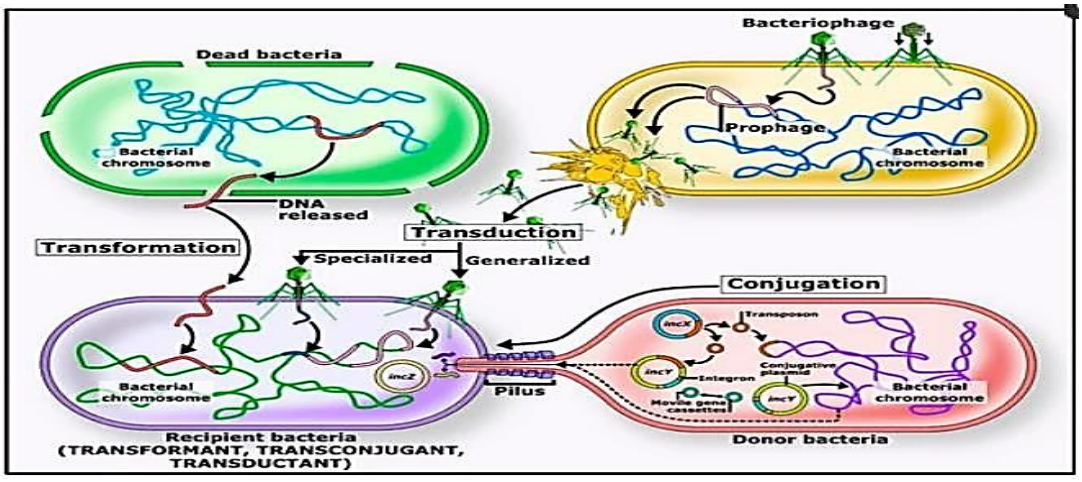

Figure 1.4 : Principaux mécanismes de transfert horizontal d'éléments génétiques entre les bactéries [134].

1.5.2.2. Mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Les bactéries peuvent se défendre contre l'action des antibiotiques par des modifications génétiques, soit en produisant des enzymes capables de les inactiver, en modifiant la structure de leurs cibles, en les expulsant par un mécanisme d'efflux ou bien en se rendant imperméables à leur pénétration [116].

1.5.2.2.1. Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique

C'est l'un des mécanismes de résistance aux antibiotiques les plus courants. La bactérie modifie la structure de l'antibiotique pour réduire sa capacité à se lier à sa cible. Il repose sur la production d'enzymes, dont l'origine peut être extrinsèque (gènes transmis par les plasmides ou les transposons) ou intrinsèque (d'origine chromosomique). Le noyau actif de l'antimicrobien sera modifié par l'enzyme par clivage ou par ajout d'un groupement chimique, empêchant l'antimicrobien de se fixer sur sa cible et provoquant une perte d'activité [135]

La sécrétion des β-lactamases constituent toujours le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux β-lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif hydrolysant le pont amide du cycle β-lactame pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif [136] [137].

Actuellement ces enzymes sont classées selon deux classifications :

- **Classification structurale d'Ambler :**

En 1980, une première classification nommée "structurale" a été proposée et repose sur la structure principale de l'enzyme, en particulier son site actif. Elle distingue quatre catégories moléculaires : A, C et D (connues sous le nom de sérines enzyme) et B (les enzymes ont deux atomes de zinc au niveau de leur site actif) (Figure1.5).

- Pénicillinases et les β-lactamases chromosomiques ou plasmidiques sensibles à l'acide clavulanique appartiennent à la classe A.
- Métalloenzymes, qui sont inhibées par l'EDTA, font partie de la classe B.
- Céphalosporinases résistantes à l'acide clavulanique, qui sont généralement chromosomiques, font partie de la classe C.
- Oxacillinases appartiennent à la classe D.

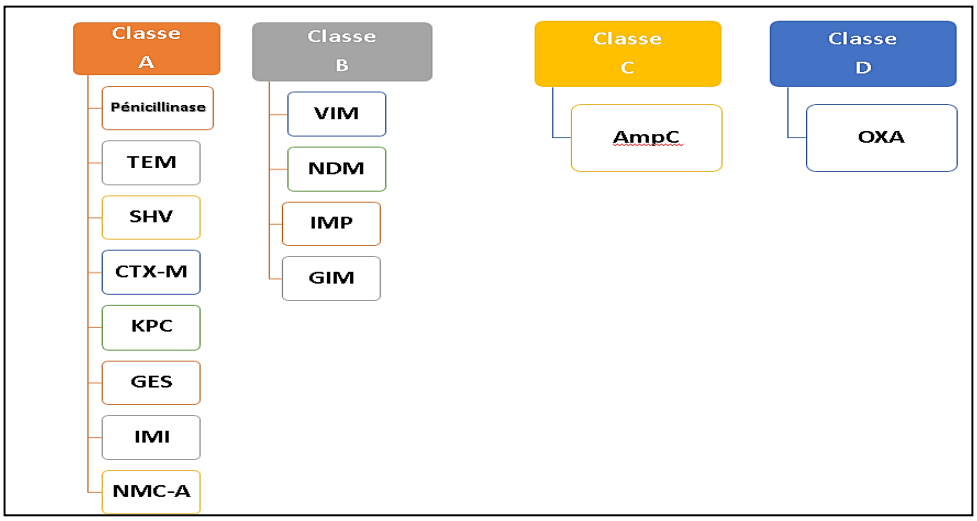

Figure1.5 : Catégories moléculaires de la classification d'Ambler [139].

- **Classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros**

Le spectre préférentiel des enzymes et leur comportement aux inhibiteurs sont la base de la classification fonctionnelle, réactualisée en 1995 et proposée par Bush et al (1995) [140] (Tableau 1.6).

Tableau 1.6 : Classification des β-lactamases bactériennes [140]

Classification Bush Jacoby-Meideros (1995)	Classification Ambler (1980)	Substrat cible
1	C	Céphalosporines
2a	A	Pénicillines
2b	A	Pénicillines, Céphalosporines
2be	A	Pénicillines, céphalosporines à spectre étroit et à spectre étendu, monobactames
2br	A	Pénicillines
2c	A	Pénicillines
2d	D	Pénicillines, cloxacilline
2e	A	Céphalosporines
2f	A	Pénicillines, céphalosporines, Carbapénèmes
3	B	La plupart des β -lactamines, y compris les carbapénèmes
4	Non déterminer	Pénicillines

- **β-lactamases à spectre étendu**

Ces enzymes sont liées aux mutations de certaines pénicillinases. Elles sont à la fois plasmidiques, transférables et sensibles aux inhibiteurs enzymatiques. Les plasmides portent les gènes qui codent pour ces enzymes et coexistent avec les gènes

de résistance à d'autres antibiotiques, ce qui explique la multirésistance des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) [141].

1.5.2.2.2. Résistance par modification de la cible

La structure de la cible de l'antibiotique peut être modifiée ou remplacée, empêchant l'antibiotique de se lier et d'exercer son activité. Ce type de résistance peut être le résultat d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible ou de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique [142].

La modification de la cible est décrite pour presque tous les antibiotiques. Elle est particulièrement importante pour les bactéries Gram positives et négatives résistantes aux pénicillines, aux glycopeptides, aux molécules du groupe Macrolides et aux quinolones [143].

1.5.2.2.3. Résistance par excrétion de l'ATB par mécanisme d'efflux

Ces systèmes d'efflux sont les plus courants dans la résistance aux antibiotiques dans le milieu médical et peuvent être divisés en quatre super familles en fonction de l'homologie de leurs structures secondaires et primaire (figure1.6).

Ils font partie de la superfamille des grands facilitateurs (MFS), de la famille des petites résistances à plusieurs médicaments (SMR), de la famille des composés toxiques et multi médicamenteux d'extrusion (MATE) et de la superfamille de la division des cellules de résistance (RND)(Figure 1.7) [144].

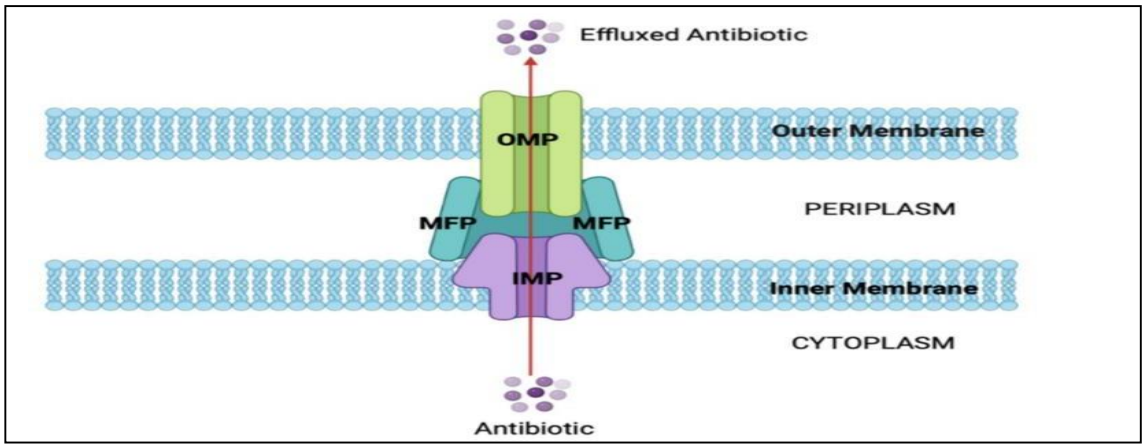

Figure 1.6 : Structure générale et fonction des pompes d'efflux RND [117].

1.2.2.2.4. Résistance par diminution de la perméabilité

Ce mécanisme de résistance s'applique aux bactéries Gram négatif qui ont une membrane externe que l'antibiotique doit traverser pour atteindre sa cible. La structure des porines ou le nombre de porines peuvent être modifiés par des mutations, ce qui entrave la diffusion de l'antibiotique jusqu'à sa cible : c'est le cas pour *Pseudomonas aeruginosa* résistant à l'imipenème [116].

Cependant, certaines bactéries ont des pompes à efflux actif qui permettent à l'antibiotique d'être extrait de la bactérie une fois qu'il a pénétré. C'est un mécanisme de résistance naturel. Cependant, il est possible que ces pompes d'écoulement actif soient surexprimées. Dans ce cas, il s'agit d'une résistance acquise, en particulier aux tétracyclines et aux macrolides [145].

1.5.3. Résistance des entérobactéries

1.5.3.1. Résistance des entérobactéries aux β-lactamines

Les entérobactéries ont acquis des résistances aux β-lactamines limitant leur activité [136].

a. Résistance non enzymatique aux β-lactamines

- **Imperméabilité**

La modification ou la perte de porines est assez fréquente chez les entérobactéries. Trois phénotypes de résistance sont associés à ces modifications :

1. Résistance de bas niveau à la céfoxitine, associée ou non à une résistance de bas niveau aux céphalosporines de 1ère et 2ème génération.
2. Résistance isolée aux céphalosporines de 4ème génération chez des souches hyperproductrices de céphalosporinases.
3. Résistance aux carbapénèmes chez des souches hyperproductrices de céphalosporinases ou de BLSE [146].

- **Modification de la cible des β-lactamines**

Des modifications des PLP par mutation ont été impliquées dans la résistance aux lactamines. Une diminution de la production de la PLP1A a été associée à la résistance à L'imipenème et au mecillinam chez *P. mirabilis*. Ces mutations restent rares chez les entérobactéries [146].

- **Pompe à efflux**

Les résistances acquises aux β-lactamines liées à l'hyper expression de ces systèmes d'efflux n'ont été décrites que chez les bactéries à Gram négatif [147].

b. Résistance enzymatique aux β-lactamines

L'inactivation de l'enzyme se fait de façon progressive « une molécule d'enzyme pour une molécule de substrat » et aboutit à la dégradation totale de l'inhibiteur. Une forte affinité et une grande vitesse d'hydrolyse favorisent la destruction rapide de la β-lactamine [148].

- **Entérobactéries productrices de β-lactamase à spectre étendu (EBLS)**

Les BLSE sont des enzymes qui inactivent les β-lactamines, y compris les céphalosporines de troisième et quatrième génération. En fait, la résistance aux pénicillines, aux oxyimino-céphalosporines (ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime) et aux monobactames (aztreonam) est causée par les BLSE [149].

Il existe trois catégories principales de BLSE : TEM, SI-IV et CTX-M.

Les BLSE de type TEM et SHV proviennent de TEM- 1 et SHV- 1. Tandis que les BLSE de type CTX-M sont retrouvés chez les entérobactéries provenant de β-lactamases chromosomiques d'espèces du genre *Kluyvera* et peuvent compromettre l'efficacité de toutes les β-lactames à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes [148] [21]

Au sein des entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance. Toutefois, ces enzymes ont été retrouvées au sein de nombreuses autres espèces d'entérobactéries [150].

- **Entérobactéries résistantes aux β-lactamase par hyperproduction de céphalosporinase (EBCASE)**

Par la sécrétion d'une céphalosporinase chromosomique, un certain nombre d'entérobactéries sont naturellement résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline-acide clavulanique et à la céfalotine (+/- certaines céphalosporines de 2ème génération). Le gène ampC code cette céphalosporinase. Un système régulateur inductible, principalement codé par deux gènes : ampD et ampR, est

responsable de la production de cette enzyme. Le gène ampR, répresseur, contrôle le niveau d'expression du gène ampC. Le niveau d'expression de la céphalosporinase est normalement faible. Une augmentation transitoire et réversible de la production de la céphalosporinase peut être observée en présence d'antibiotiques inducteurs comme la céfoxitine ou l'imipénème [116].

La protéine AmpD est une amidase cytosolique active lors du recyclage des produits de dégradation du peptidoglycane, Des mutations dans la protéine AmpD aboutissent à l'hyperproduction constitutive d'AmpC par levée de l'inhibition du répresseur AmpR [145].

- **Entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC)**

Actuellement, les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (EPC) sont un problème de santé publique. Les entérobactéries peuvent devenir résistantes aux carbapénèmes grâce à trois mécanismes principaux : mutations des pores, pompes d'efflux et l'expression de β-lactamases, qui ont une forte activité hydrolytique par rapport aux carbapénèmes [151].

En milieu clinique, elles sont considérées comme l'une des β-lactamases les plus puissantes, disponibles en raison de l'efficacité de la plupart des β-lactames. Une grande variété de carbapénèmases affiliés aux classes A, B et D peuvent être produites par des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes. Les exemples de ces carbapénèmases incluent KPC (classe A), NDM (classe B) et OXA-48 (classe D), qui sont répandus dans le monde entier [152].

1.5.3.2. Résistance aux aminosides

Il a été établi que les bactéries résistent aux aminosides par trois grands mécanismes :

- **Diminution d'entrée :** La résistance aux aminoglycosides consécutive à une diminution de l'entrée peut être intrinsèque ou acquise. La diffusion d'aminoglycosides à travers la membrane cytoplasmique peut être réduite par le potentiel électrique établi par le système de transport d'électrons qui réduit la concentration intracellulaire de ces composés [153].
- **Altération de la cible :** La résistance aux arninoglycosides peut être conférée par différents changements mutationnels de leur cible [153].

- **Inactivation enzymatique :** Cette modification structurale consiste en l'ajout d'un groupement sur les positions aminées ou hydroxylées des aminoglycosides ce qui empêche leur fixation sur le site A [153].

1.5.3.3. Résistance des entérobactéries aux quinolones

La résistance aux quinolones est généralement due à une diminution de l'affinité de l'antibiotique pour sa cible. Cela est dû à des mutations intempestives qui modifient l'ADN gyrase et/ou la topoisomérase IV. Les gènes de support plasmidique transférables horizontalement et les mécanismes de résistance de support chromosomique transmissibles verticalement sont tous deux liés à la résistance des entérobactéries aux quinolones. La principale cause de la résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones est un défaut d'affinité de la cible. Les topo-isomérases, qui sont des cibles des quinolones, telles que l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, peuvent être modifiées en acides aminés suite à la mutation des gènes correspondants. Plus rarement, cette résistance peut être causée par des phénomènes d'efflux [154].

1.5.3.4. Résistance des entérobactéries aux polymyxines

Les mécanismes similaires à ceux de la colistine et des polymyxines B peuvent être utilisés par les bactéries Gram négatif pour produire une résistance. Les modifications de la membrane externe bactérienne sont le mécanisme le plus important, principalement en modifiant la partie du LPS. Cependant, la résistance à la polymyxine peut être causée par d'autres changements dans la membrane externe bactérienne [155].

1.5.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques *Pseudomonas aeruginosa*

1.5.4.1. Résistance aux β-lactamines

a. Résistance naturelle aux β-lactamines

Ces mécanismes démontrent la résistance de *P. aeruginosa* aux β-lactamines :

- La production de céphalosporinase inductibles par le gène AmpC : cause une résistance à l'amoxicilline, la céfalotine, la céfoxitine, la ceftriaxone, le céfotaxime et l'ertapénème.

- Une faible perméabilité membranaire aux β-lactamines due à la petite taille des porines. L'antibiotique est exporté hors de la cellule via le système d'efflux membranaire MexAB-OprM. Ce dernier est constitué de trois protéines, MexA, MexB et OprM, qui sont présentes dans les membranes interne et externe de la paroi bactérienne [156].

b. Résistance acquise aux β-lactamines

Les souches sauvages expriment faiblement AmpC et sont sensibles aux pénicillines, aux céphalosporines et aux carbapénèmes en raison de la répression par les produits des gènes associés *ampR* et *ampD*. La production accrue de AmpC entraîne une résistance à toutes les β-lactamines, sauf les carbapénèmes. Cette augmentation est due à une hyperexpression induite et réversible [157].

Les souches de PAMR surexpriment constitutivement et irréversiblement le gène *ampC* en raison de sa non-répression ou de ses gènes régulateurs [157].

Quatre enzymes PSE (une des familles BLSE) sont présentes chez *P. aeruginosa* : PSE-1 (CARB-2), PSE-4 (CARB-1), CARB-3 et CARB-4. Les céphalosporines anti *Pseudomonas*, les carbapénèmes ou l'aztréonam ne sont pas hydrolysés par les PSE-1 et PSE-4, mais ils sont hydrolysés contre les pénicillines et sont typiquement inhibées par les inhibiteurs des β-lactamines [158].

La stratégie adoptée par *P. aeruginosa* pour la résistance aux carbapénèmes est l'imperméabilité membranaire par une mutation inactivatrice d'oprD (gène codant la protéine D2), cela entraîne la perte de la porine D2 et l'apparition d'une résistance à l'imipenème. La surexpression du système d'efflux MexXY-OprN peut réduire la sensibilité au méropénème, mais l'association de ces mécanismes entraîne généralement une résistance aux carbapénèmes par *P. aeruginosa*, mais n'affecte pas l'activité des autres lactamines [157] [158].

Le système de pompe à efflux connu chez *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistantes (PAMR), MexAB-OprM (expression constitutive faible), qui se compose d'une pompe (MexB), d'une lipoprotéine de liaison (MexA) et d'un portail de sortie (OprM), joue un rôle important dans la multirésistance chez *P. aeruginosa*. Le système MexAB-OprM est régulé à haut niveau par des mutations activatrices portant sur l'opéron MexAB-OprM. Cela donne à ces bactéries une résistance aux quinolones,

aux pénicillines anti-Pseudomonas et aux céphalosporines anti-Pseudomonas, tout en réduisant sa sensibilité vis à vis du méropénème, tandis que la sensibilité à l'imipenème reste immutable [144].

1.5.4.2. Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides concerne par ordre de fréquence décroissante : la Gentamicine, la Tobramycine, la Netilmicine, et l'Amikacine. La corésistance avec les β-lactamines et les fluoroquinolones est fréquente, surtout pour le sérotype O.

Il existe 2 mécanismes différents de résistance aux aminosides : l'acquisition d'enzymes plasmidiques inactivatrices des aminosides, qui sont les aminoacétyl-transférases, nucléotidyl-transférases, phospho-transférases et l'imperméabilité par la diminution des mécanismes de transport actif de l'antibiotique dans la bactérie, responsable d'une résistance de bas niveau à tous les aminosides [159].

1.5.4.3. Résistance aux quinolones

La ciprofloxacine, avec une CMI comprise entre 0,125 et 1mg/l, est la fluoroquinolone la plus active contre *P. aeruginosa*. La raison de cette résistance sont les mutations chromosomiques dans les gènes des topoisomérases II (gyrA) et IV (parC) et/ou des gènes de régulation du système d'efflux [154].

1.5.4.4. Résistance aux polymyxines

L'émergence et la propagation de souches de *P. aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques a conduit à une augmentation de l'utilisation des antibiotiques tels que la polymyxine B et la colistine comme traitements. Cependant, ces bacilles ont réussi à modifier la composition de leur membrane externe de manière à la rendre imperméable à ces deux agents en modifiant spécifiquement la partie lipidique A du LPS ce qui entraîne une réduction de la charge nette négative de la membrane externe, soit par des mutations, soit par l'activation de systèmes membranaires complexes appelés « systèmes de régulation à deux composants » comme ParR/S [160].

1.5.5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*

1.5.5.1. Résistance aux β-lactamines

a. Mécanismes enzymatiques

La réduction de la taille des protéines de la membrane externe, une production limitée de porines et une imperméabilité naturelle, en particulier aux carbapénèmes, contribuent à la résistance naturelle d'*A. baumannii* à certaines β-lactamines. Une pompe à efflux naturellement active vis-à-vis d'un large spectre d'antibiotiques est responsable de cette imperméabilité [122]. Par conséquent, la céphalosporine (AmpC) est la β-lactamase chromosomique de cette espèce, ainsi l'ADC (Acinetobacter-Derived-Céphalosporinase), qui hydrolyse les aminopénicillines et les céphalosporines de première et de deuxième génération mais n'a pas d'activité contre les pénicillines et la pipéracilline. C'est l'un des nombreux types de céphalosporinase qui ont été identifiés chez *A.baumannii*. Ces enzymes de la classe C ne sont pas sensibles à l'acide clavulanique ou à d'autres inhibiteurs de la β-lactamase [161].

L'expression d'AmpC chez *A. baumannii* n'est pas inductible. Il contient également une enzyme de classe D ou oxacillinase chromosomique naturelle (OXA-51) utilisée comme marqueur d'espèce. OXA-51, OXA-69 et OXA-66 sont des variants. Ces enzymes affectent certaines β-lactamines, y compris l'imipenème [122].

- **Pénicillinases :**

Les différentes pénicillinases plasmidiques ont été caractérisées chez *A.baumannii*. Il s'agit principalement de l'enzyme TEM-1. Les autres types moins fréquents étant TEM-2, CARB-5 et SCO-1. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, piperacilline) [122].

- **Céphalosporinase de classe C :**

La céphalosporinase de type AmpC, qui est généralement exprimée à bas niveau, est produite naturellement par *A. baumannii* et ne diminue pas l'efficacité des céphalosporines à large spectre (céphalotine) ou des carbapénèmes. La résistance à la ceftazidime et à d'autres céphalosporines à large spectre est obtenue en favorisant l'expression de cette lactamase de type AmpC en introduisant une séquence spécifique ISAba1 en amont du gène *bla* $_{ampC}$ [158].

- **β-lactamases à spectre élargi**

Les BLSE ont été découvertes chez les *A. baumannii* dont l'ampC PER-1 a été la première enzyme de type BLSE trouvée chez *A. baumannii* en Belgique [161].

D'autres enzymes de type BLSE ont été découvertes chez *A. baumannii*, telles que PER-2 ; PER-7 ; VEB-1 ; des variants de TEM (TEM-92, TEM-116 et TEM-150 ; GES-11, GES -12, et GES -14), ainsi que la carbenicillinase à spectre étendu CARB-10, qui est capable d'hydrolyser le Céfépime et le Céfpirome mais pas le Céfotaxime ni le Céftazidime ou encore au moins trois BLSE de type SHV (SHV-2, -5 et -12), ou 3 enzymes de type CTX-M (CTX-M-2,CTX-M -15 et CTX-M-43) [161].

- **Métallo-β-lactamases de classe B**

Les métallo-β-lactamases (MBL) de classe B nécessitent un atome de zinc pour détruire les β-lactamines, mais l'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) les inhibe. Les dérivés IMP, VIM, SIM et NDM sont les déterminants MBL d'A. baumannii les plus décrits. Un des déterminants les plus récents décrits, NDM-1 (New-Delhi Métallo-Lactamase), a été largement médiatisé et an une grande capacité de dissémination. Il représente un véritable problème de santé publique [162]

- **Oxacillinase de classe D**

Les oxacillinases hydrolysent l'oxacilline, la cloxacilline et la benzylpénicilline, et le chlorure de sodium inhibe leur activité. De plus, l'acide clavulanique les inhibe légèrement. La majorité des lactamases OXA n'hydrolysent pas de manière significative les C3G/C4G, mais il y a eu une évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers une expansion du spectre, similaire aux dérivés TEM/SHV [161].

Des oxacillinases avec des propriétés de carbapénèmases ont été identifiées chez *A. baumanni*. Ces oxacillinases sont appelées OXA-23, OXA-24/OXA-40 et OXA-58, et il existe trois autres types. Elles confèrent des degrés variables d'hydrolyse des Carbapénèmes dépendant de leur niveau d'expression [161].

En Ecosse, les oxacillinases (CHDL) telles que OXA-23, qui était auparavant appelée ARI-1 "*Acinetobacter* résistant à l'imipeneme-1", ont été identifiées pour la première fois. Le gène OXA-23 d'*A. baumannii* a été identifié sur plusieurs types de transposons (Tn 2006, Tn 2007 et Tn 2008) situés au sein du chromosome ou sur

différents plasmides, démontrant la grande variété des voies de distribution de l'enzyme [163].

b. Mécanisme non enzymatique

- **Modification des protéines liant la pénicilline**

L'utilisation de trans-peptidases alternatives pour la synthèse du peptidoglycane ou la modification de la cible des β-lactamines (PLP) par mutation peuvent provoquer une résistance bactérienne. La capacité des β-lactamines à se fixer aux PLP est un facteur qui détermine leur efficacité. La résistance aux carbapénèmes est causée par la perte ou la diminution de l'expression d'une PLP connue sous le nom de PLP2 chez *A. baumannii* [158].

- **Diminution de la perméabilité membranaire**

La modification de la perméabilité membranaire par diminution de l'expression des porines chez *A. baumannii* est impliquée dans la résistance aux carbapénèmes. Elle est due à la perte de la protéine de membrane externe CarO suite à l'interruption du gène carO par différentes séquences d'insertion [158].

- **Surexpression du système d'efflux**

Les bactéries utilisent des pompes à efflux, qui contribuent à réduire les concentrations de composés toxiques intracellulaires, il existe un ou deux systèmes d'efflux chez *A. baumannii*, dont certains affectent la pénétration des antibiotiques) [164].

La surexpression de l'AdeABC est associée à une augmentation du niveau de résistance à l'imipenème et au Méropénème [164].

1.5.5.2. Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices, comme chez les autres bacilles à Gram négatif. Les plasmides, les transposons ou les cassettes au sein des intégrons contiennent les gènes codant pour ces enzymes, ce qui facilite leur rapide dissémination [49]. Le tableau 1.7 montre les enzymes d'inactivation des aminosides d'*A. baumannii* les plus courantes [165].

Les *Acinetobacter* génèrent souvent plusieurs enzymes telles que les acétylases, les adénylases et les phosphotransférases, car 75 % des souches produisent au moins deux types d'enzymes. Les méthylases ARNr 16S (ArmA et RmtA) ont récemment été décrites chez des souches *A. baumannii* isolées dans le monde qui ont méthylé l'ARNr 16S. Un plasmide porte les gènes des méthylases et est lié au transposon Tn1548. Tous les aminoglycosides utilisés dans le traitement présentent une résistance exceptionnelle grâce à ce mécanisme. Enfin, des mécanismes d'efflux impliquant la pompe AdeABC et la pompe AbeM sont également liés à la résistance aux aminosides [165].

Tableau 1.7 : Enzymes d'inactivation des aminosides produits par *A.baumannii* et spectre d'activité [165]

Enzyme	Nomenclature	Substrat
Acétylases	AAC(3)-I AAC(3)-II AAC(6')-I AAC(6')-II	G GTN TNA GTN
Adénylases	ANT(2'')-I	GT
Phosphorylases	APH(3')-I APH(3')-VI	KNeo KNeo AI
Méthylase	Arm A	GTA
16S RNA (rRNA)	Rmt A	GTAN

1.2.5.3. Résistance aux quinolones

La résistance aux antibiotiques d'*A. baumannii* est principalement due à des mutations chromosomiques au niveau d'une région appelée « région de détermination de la résistance aux quinolones » (QRDR), notamment dans les gènes gyrA et parC codant les topoisomérases : l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV. Les mutations les plus fréquentes des codons d'acides aminés sont Ser 83 et Gly 81 dans gyrA et Ser 80 et Glu 84 dans parC, ce qui entraîne une diminution de l'affinité de ces antibiotiques au complexe enzyme-ADN [116].

L'acquisition des gènes à médiation plasmidiques, qui codent pour la production de Qnr, est le mécanisme de résistance aux quinolones. Les Qnr sont des protéines très proches de l'ADN et se fixent sur l'ADN gyrase en empêchant la formation du complexe sur lequel se fixent les Quinolones.La résistance aux Fluoroquinolones est également influencée par la surexpression des systèmes d'efflux de type RND (AdeABC, AdeIJK) et des pompes de type MATE (AdeM) [116].

1.5.5.4. Résistance aux Polymyxines

Malgré leurs effets indésirables, la Polymyxine B et la Polymyxine E (colistine) ont été utilisées au cours de ces dix dernières années comme "dernier recours" pour traiter les infections causées par *A. baumannii*. La résistance à la colistine a été signalée et conçue avec une grande inquiétude [116].

Deux mécanismes sont principalement liés à l'acquisition de la résistance : l'altération du lipide A (composant du LPS) causée par des mutations au niveau du système de régulation PmrAB, et l'absence de production de LPS causée par des mutations dans les gènes lpxA, lpxC et lpxD qui codent pour les enzymes qui catalysent les premières étapes de la synthèse. Par conséquent, la pompe à efflux EmrAB peut jouer un rôle dans la résistance de *A. baumannii* à la Colistine [116] (figure 1.7).

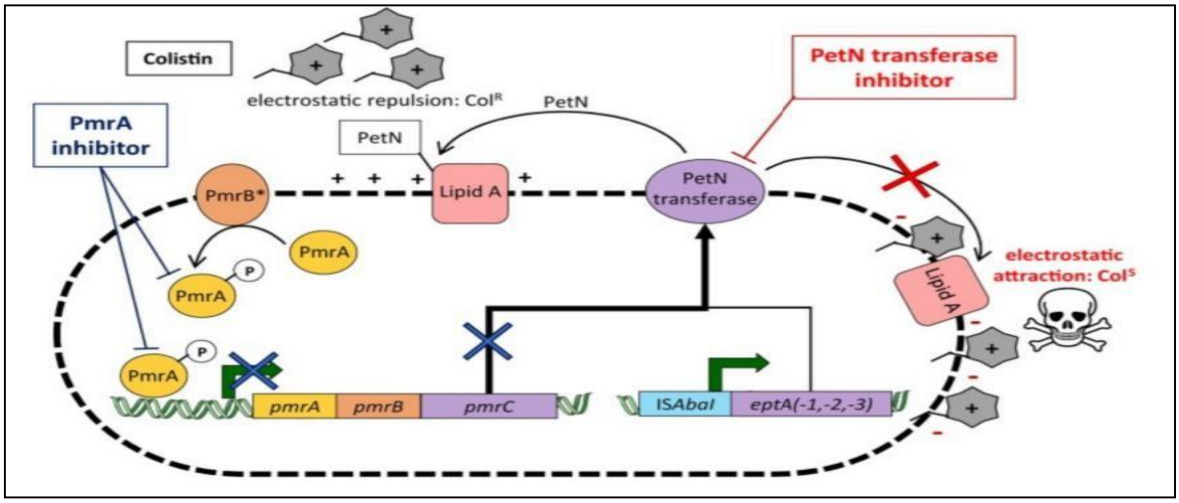

Figure 1.7 : Mécanisme de résistance des *A. baumannii* à la colistine [117]

1.5.6. Mécanisme de résistance de *Burkholderia cepacia*

Les Burkholderia sont des bactéries naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques dont les aminoglycosides et la polymyxine B. La plupart de ces bactéries ont une résistance innée à la polymyxine en raison d'un lipopolysaccharide modifié. L'un des facteurs importants dans la multirésistance des Burkholderia sont les pompes d'efflux [166].

Les infections à Burkholderia nécessitent l'utilisation des β-lactamines de troisième et quatrième génération, mais l'expression de plusieurs β-lactamases et de mutations cibles du ceftazidime réduit leur efficacité thérapeutique. La résistance aux

fluoroquinolones et au triméthoprime est due à des altérations des cibles de l'ADN gyrase et de la dihydrofolate réductase, respectivement [166].

1.5. 7. Mécanisme de résistance de *Stenotrophomonas maltophilia*

S. maltophilia est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques à large spectre (y compris tous les carbapénèmes) en raison de la production de deux métallo-β-lactamases chromosomiques inductibles (désignées L1 et L2) à des niveaux variables et de deux autres mécanismes de résistance (modification des protéines de membrane externe et phénomène d'efflux actif) ce qui explique la diversité des phénotypes de résistance [167].

- **L1 :** Métalloenzyme conférant la résistance à l'imipenème, produite par plus de 99% des souches, le nombre de souches sensibles à l'imipenème est très faible (moins de 1%) [167].
- **L2 :** Béta-lactamase chromosomique de classe A, inhibée par l'acide clavulanique, produit en quantité variable, touchant ticarcilline, cefotaxime, aztréonam, et ceftazidime. Une synergie entre l'acide clavulanique et la ceftazidime, l'aztreonam peut être visualisée. Selon la quantité de L2 produite, certaines souches peuvent apparaître sensibles (S) vis-à-vis de la ceftazidime [167].

1.5.8. Biofilm et résistance aux antibiotiques

L'adoption du mode de vie biofilm s'accompagne de profondes modifications de l'expression des gènes qui induisent de très nombreuses modifications physiologiques. Plusieurs mécanismes génétiques spécifiques ont été mis en évidence tels que l'accumulation de glucanes inhibant la diffusion des antibiotiques à travers le périplasme de *P. aeruginosa* ou l'expression de pompes d'efflux d'antibiotiques spécifiquement exprimées par le biofilm chez *E. coli* ou *P. aeruginosa* [112].

Les bactéries peuvent communiquer dans leur mode de vie privilégié, c'est-à-dire dans le biofilm, grâce à un système de communication intra- et interspécifique et intergenre, appelé quorum sensing [168]. C'est un mécanisme utilisé par les bactéries pour contrôler l'expression de plusieurs gènes de manière synchronisée et dépendante de la densité cellulaire. Il participe à de nombreux processus physiologiques, tels que

la production de facteurs de virulence, l'émission de bioluminescence, la production de pigments, la formation de biofilm ou la motilité [169].

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants). Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.). Elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus [113] (figure 1.8).

La résistance élevée des biofilms aux agents antibactériens pourrait également reposer sur la présence d'une sub-population de bactéries résistantes, capables de résister à de fortes concentrations d'antibiotiques. Cette configuration d'agglomération de colonies favorise les transferts de gènes de résistance entre bactéries. Les antibiotiques sont en effet très peu efficaces dès lors qu'il existe un biofilm [170].

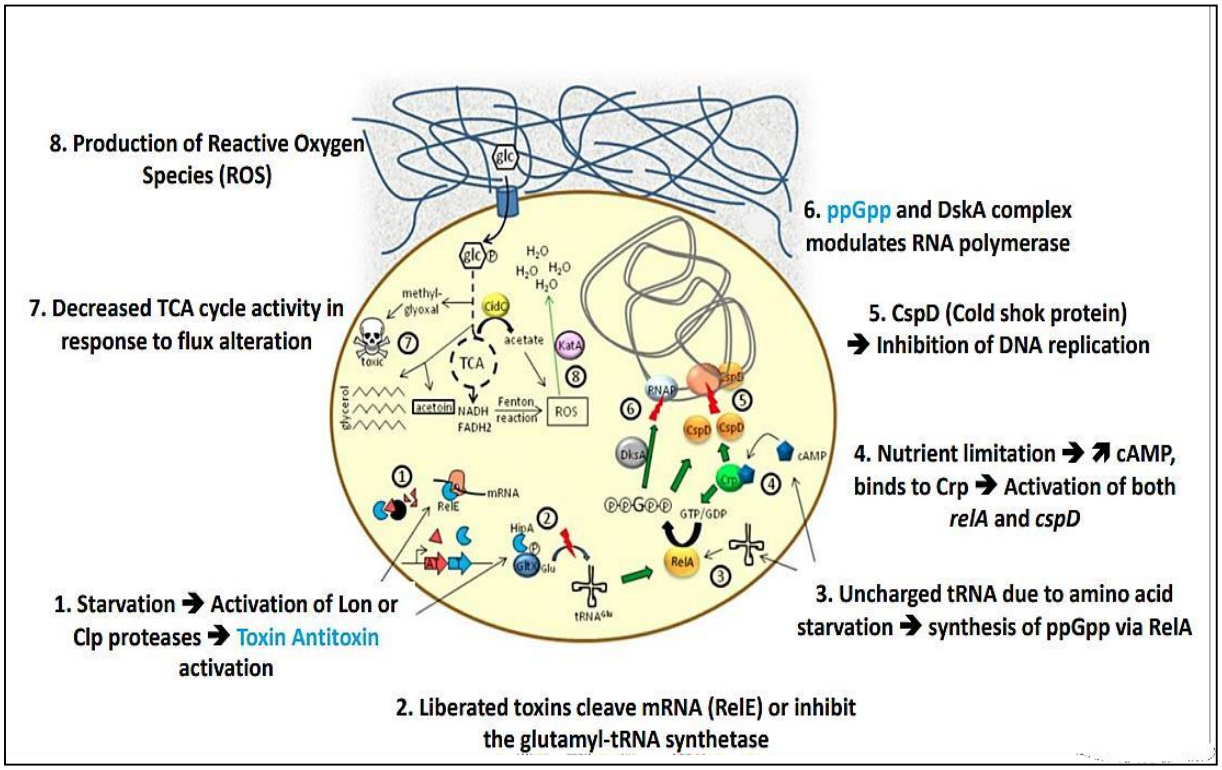

Figure 1.8 : Mécanismes moléculaires de persistance des biofilms [171].

1.6. Prévention et Moyens de lutte contre les BMR dans l'environnement hospitalier

1.6.1. Hygiène de l'environnement hospitalier

L'environnement concerne tout ce qui contribue à la prise en charge d'une personne hospitalisée. Cela concerne non seulement l'unité d'hospitalisation, mais aussi l'unité médicaux-technique (consultation, exploration fonctionnelle, bloc opératoire), ainsi que les installations qui fournissent l'alimentation, le traitement des déchets et autres.

Il s'agit également de l'hygiène de toutes les surfaces (tels que les sols, les murs, la table, les chariots de transport, les chaises, les dispositifs médicaux, etc…). L'environnement est également concerné par l'hygiène des soins infirmiers, notamment l'eau qui circule à tous les niveaux de l'établissement hospitalier [172].

1.6.1.1. Antisepsie

C'est l'ensemble des méthodes et moyens destinés à prévenir l'infection en détruisant ou en inhibant la croissance des micro-organismes sur les tissus vivants ou les objets inanimés en utilisant des procédés physiques (filtre, rayonnement) ou chimiques (substances bactéricides, virucides ou fongicides). Ils agissent par dénaturation des protéines ou blocage du métabolisme ou altération des membranes des micro-organismes [173].

Les principaux antiseptiques sont : l'alcool éthylique à 70°, les hypochlorites dilués, l'iode, l'eau oxygénée, les ammoniums quaternaires, les phénols, les acides organiques, la chlorhexidine et le trichlocarban [173].

1.6.1.2. Désinfection

Elle permet d'éliminer la plupart mais pas tous les micro-organismes à l'origine d'infection sur le matériel utilisé. La désinfection de haut niveau détruit la plupart des micro-organismes à l'exception de certaines endospores bactériennes. La désinfection de haut niveau peut être réalisée par ébullition ou par trempage dans divers désinfectants chimiques [174].

1.6.2. Surveillance des infections nosocomiales

La surveillance des infections nosocomiales est une tâche cruciale car elle fournit des données épidémiologiques nécessaires pour :

- Évaluer les risques infectieux dans un établissement de soins.
- Établir la stratégie de prévention que le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales et l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière devrait mettre en place.
- Évaluer l'efficacité de la politique de prévention [175].

1.6.2.1. Enquête de prévalence

La surveillance des infections nosocomiales est un bon moyen de sensibiliser les responsables et le personnel de santé et d'attirer leur attention sur l'épidémiologie infectieuse, permettant de développer des actions de prévention au niveau d'un service ou d'un établissement de santé [176].

1.6.3. Mesures de prévention

Les mesures proposées à prendre pour la lutte contre les BMRs consiste à :

1.6.3.1. Techniques d'isolement

C'est un ensemble de mesures destinées à empêcher la transmission croisée. Pour réduire la transmission manuportée, tout patient hospitalisé en service de réanimation doit bénéficier d'un isolement technique standard qui repose en partie et essentiellement sur l'hygiène des mains pour éviter la transmission d'infections d'origine manuportée [176].

En plus de l'isolement technique habituel, un isolement technique particulier est recommandé pour les patients souffrant de BMR. Son objectif est double : éliminer la transmission croisée entre le patient porteur et les autres patients et réduire l'auto-infection du patient porteur pendant les soins [176].

Les soins médicaux et paramédicaux doivent toujours débuter par les patients indemnes et se terminer par les patients souffrant de BMR dans la hiérarchie des soins, dans ce cas, les soins non contaminants doivent être effectués avant les soins contaminants [176].

1.6.3.2. Cohorting

La notion de "cohorting" fait partie de l'organisation spécifique des soins, qui peut, selon les cas, signifier un regroupement ou une concentration géographique des patients souffrant de BMR ou la mise en place de personnels dédiés à la prise en charge du (des) patient (s) souffrant d'une Bactérie Hautement Résistante (BHRe). [177].

1.6.3.3. Stratégies anti-biofilm

Plusieurs moyens et stratégies contre la formation de biofilm ont été développés :

- L'hygiène reste le moyen classique qui permet d'éviter la contamination microbienne et donc l'adhésion et la formation ultérieure de biofilm.
- Des peintures anti-adhérentes, sans biocide, généralement à base de silicone ou de fluoropolymère sont utilisées afin de limiter l'effet des forces d'adhésion des microorganismes aux surfaces. Ces dernières années et vu la capacité des micro-organismes d'adhérer aux différentes surfaces, des options de lutte alternatives sont utilisés telles que les composés naturels (N-Tween 20 et Triton X-100) (Chen et stewart, 2000) et les métaux inorganiques comme le cuivre et les alliages de cuivre (le cupronickel, le cuivre-nickel-zinc et le bronze).
- Récemment, des stratégies basées sur l'utilisation des enzymes bactériennes comme la dispersine B (capable de dégrader le polymère de N-acétyl-glucosamine de la matrice du biofilm) et des bactériophages ont également montré une capacité pour lutter contre la formation des biofilms [177].

CHAPITRE 2
MATERIEL ET METHODES

Cette étude expérimentale a porté sur des échantillons bactériens, notamment des Entérobactéries, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*, isolées dans le cadre des enquêtes. Les prélèvements ont été effectués sur des surfaces, des instruments et des dispositifs médicaux dans divers services des établissements hospitaliers. Il est important de préciser que ces prélèvements n'avaient pas pour objectif l'identification des souches spécifiques, mais visaient principalement à évaluer le profil de résistance des bactéries isolées. La confirmation et l'identification des souches et la réalisation de l'antibiogramme ont eu lieu au laboratoire Biotechnologies, Environnement et Santé de la faculté SNV de l'université Blida 1 ainsi qu'au laboratoire central, Unité de Microbiologie, Centre Hospitalo-Universitaire Frantz Fanon (Blida).

Les techniques de biologie moléculaire ont été réalisés au niveau du laboratoire de biotechnologie et de biologie moléculaire « Wiragen » à Oran.

2.1. Cadre de l'étude

Cette étude s'inscrit dans le cadre du projet de recherche PRFU intitulé « Isolement, identification et évaluation de l'antibiorésistance des bactéries isolées à partir de l'environnement ». Elle a été menée de janvier 2019 à novembre 2022. La collecte et le suivi des prélèvements ont été influencés par la période de la pandémie de la « Covid-19 ».

Les établissements de santé étudiés étaient situés dans la wilaya de Blida et comprenaient :

- Le CHU Frantz Fanon, d'une capacité globale de 497 lits, avec des services tels que : Pneumo-Phtisiologie, Rhumatologie, Médecine Interne, Chirurgie Générale, Gynéco-Obstétrique, Pédiatrie, Pharmacie, Laboratoire, Radiologie, Anatomo-Pathologie, ainsi que deux nouvelles cliniques UMC (Urgence Médico-chirurgicales) et traumato-orthopédie.
- L'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik, d'une capacité de 192 lits avec cinq services comprenant Chirurgie générale, Maternité, Pédiatrie, Médecine interne et Service infectieux.

- L'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Brahim Abdellah Tirichine (ex-Faubourg), avec 126 lits et sept services : Phtisiologie, Rhumatologie, Médecine interne, Rééducation fonctionnelle, Urgences médicales, Radiologie et un laboratoire d'analyses médicales.
- L'Etablissement Public Hospitalier Al-Affroun, d'une capacité de 120 lits. Il comprend 04 services : Médecine Interne, Pédiatrie, Gynéco-Obstétrique, Urgence Médico-Obstétrique.

Contrôle de qualité de l'étude

Les souches standards d'*Escherichia coli ATCC 25922* et *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* ont été utilisées pour vérifier l'efficacité des antibiotiques testés. Pour le test de confirmation BLSE, des souches témoins *Klebsiella pneumoniae* clinique (BLSE positives) et *Escherichia coli ATCC25922* (BLSE négatives) ont été utilisées. De même, pour les tests de confirmation de la carbapénémase, les souches témoins *Klebsiella pneumoniae* clinique (positives) et *Escherichia coli ATCC 25922* (négative) ont été utilisées. Le profil de résistance des souches cliniques a été confirmé par l'Institut Pasteur d'Algérie.

Pour le génotypage, les souches utilisées dans les tests phénotypiques sont reprises comme témoins positifs et négatifs dans la réaction PCR. Pour chaque amorce, les gènes BLSE et carbapénèmase ont été vérifiés par une réaction de PCR.

2.2. Echantillonnage

Des enquêtes de prévalence épidémiologique et des contrôles d'hygiène des surfaces et des dispositifs médicaux ont été menés de janvier 2019 à juin 2022, comme indiqué dans le Tableau 2.1.

Au cours de cette période, un total de 851 échantillons a été collecté à partir de diverses surfaces, dispositifs et instruments médicaux dans les services suivants :

- Unité de Réanimation, Centre Hospitalo-Universitaire, Frantz Fanon, Blida.
- Bloc Opératoire et Post-opératoire de Service de Neurochirurgie, Centre Hospitalo-Universitaire, Frantz Fanon, Blida.
- Bloc opératoire et Post-opératoire de Service d'Orthopédie-Traumatologie, Centre Hospitalo-Universitaire, Frantz Fanon, Blida.

- Centre anti cancer, Blida.
- Service de Gynécologie, Etablissement Public Hospitalier, Boufarik.
- Service de Néonatologie, Etablissement Public Hospitalier, Boufarik.
- Service Médecine Interne, EPH Brahim Abdellah Tirichine, Blida.
- Service de Pneumologie, EPH Brahim Abdellah Tirichine, Blida.
- Service de Gynécologie, Etablissement Public Hospitalier, Al Afroune.

Tableau 2.1 : Période et répartition du nombre de prélèvements par service.

Établissements	Services	Période	Nombre de prélèvements	Total
CHU Frantz fanon	Réanimation	02/2019 – 11/2021	106	369
	Neurochirurgie	02/2019 – 11/2021	126	
	Traumatologie	10/2019- 02 / 2020	97	
	CAC hématologie	10/2019- 02/2020	42	
EPH Boufarik	Gynécologie	02/2019- 05/2020	90	280
	Néonatologie	02/2019- 05/2019	190	
EPH Brahim Tirichine	Médecine interne Diabétologie	01/2020 03/2020	40	80
	Médecine interne Pneumologie	01/2020 03/2020	40	
EPH Al AFFROUN	Gynécologie	02/2022 06/2022	120	120
Total	**851**			

Pour chaque établissement, les souches isolées sont rassemblées en classant les services selon les zones de risque (très haut risque- risque sévère) [179]:

Tableau 2.2 : Classement des services étudiés selon les zones de risques

Zones de risque [179]	Services		Etablissement
Très haut risque	Unité des soins intensifs	Réanimation	CHU Frantz fanon
	Blocs opératoire	Neurochirurgie Traumatologie	
	CAC hématologie	Salles de soins et Chambres d'hospitalisation	
	Gynécologie	Salles d'accouchement	EPH AL AFFROUN

Suite Tableau 2.2 : Classement des services étudiés selon les zones de risque.

			EPH Boufarik
	Néonatologie	Salles de soins et Chambres d'hospitalisation	EPH Boufarik
Risque sévère	Médecine interne	Pneumologie Chambres d'hospitalisation	EPH Brahim Tirichine
		Diabétologie Chambres d'hospitalisation	

2.2.1. Sites de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés en triplicata sur des sites à proximité des patients et en contact avec le personnel soignant (voir tableau 2.2), le matin avant le nettoyage et/ou après la désinfection quotidienne. La fréquence des prélèvements varie en fonction du niveau de contamination et de l'implication du site (voir tableau 2.3), évoluant au fil des enquêtes de prévalence.

Tableau 2.3: Répartitions des sites de prélèvement

Sites	Réanimation	Bloc opératoire/ Salles d'accouchement	Post opératoire/ chambres	Autres
Surfaces	Sources vide Sources d'oxygène Chariots de réanimation Poignée de portes Murs Tuyaux d'aspiration Potences Lits Literies	Chariots de médicament Tables opératoires Scialytiques Barboteurs d'oxygène Tables d'anesthésie Tables de changement Tambour Tuyaux de respiration Plateaux d'anesthésie	Fenêtre (PVC) Source vide Lits Literies Poignée de porte Murs Potence Chaise Couveuses	Cour d'eau et robinet Évier Laverie Comptoirs arrière bloc Séparateurs Bacs de lavage
Dispositifs médicaux	Scope Seringue électrique Masque Echographe Humidificateur Laryngoscope Bocaux d'aspirations	Scopes Boites d'instrument Appareils d'anesthésie Respirateurs Bocaux d'aspirations	Seringues électriques Masques Echographes Scopes Manomètres de respiration Chariots des médicaments Orifices d'oxygène Barboteurs Biberons	Autoclaves

2.2.2. Prélèvement des échantillons

Les prélèvements ont été réalisés selon la technique d'écouvillonnage de Salo et al., 2000 [180], à partir des divers sites. Un écouvillon a été trempé dans un tube contenant 10 ml de bouillon cœur-cerveau (BHIB), puis pressé contre la paroi du tube pour éliminer l'excès de liquide. Ensuite, des stries perpendiculaires et horizontales, à un angle d'environ 30°, ont été réalisées sur les surfaces et les instruments ciblés. Chaque écouvillon a été replacé dans le tube d'essai en coupant le bâtonnet.

Au laboratoire, les tubes ont été agités à l'aide d'un vortex pendant 1 minute, puis soigneusement incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures (voir Figure 2.1).

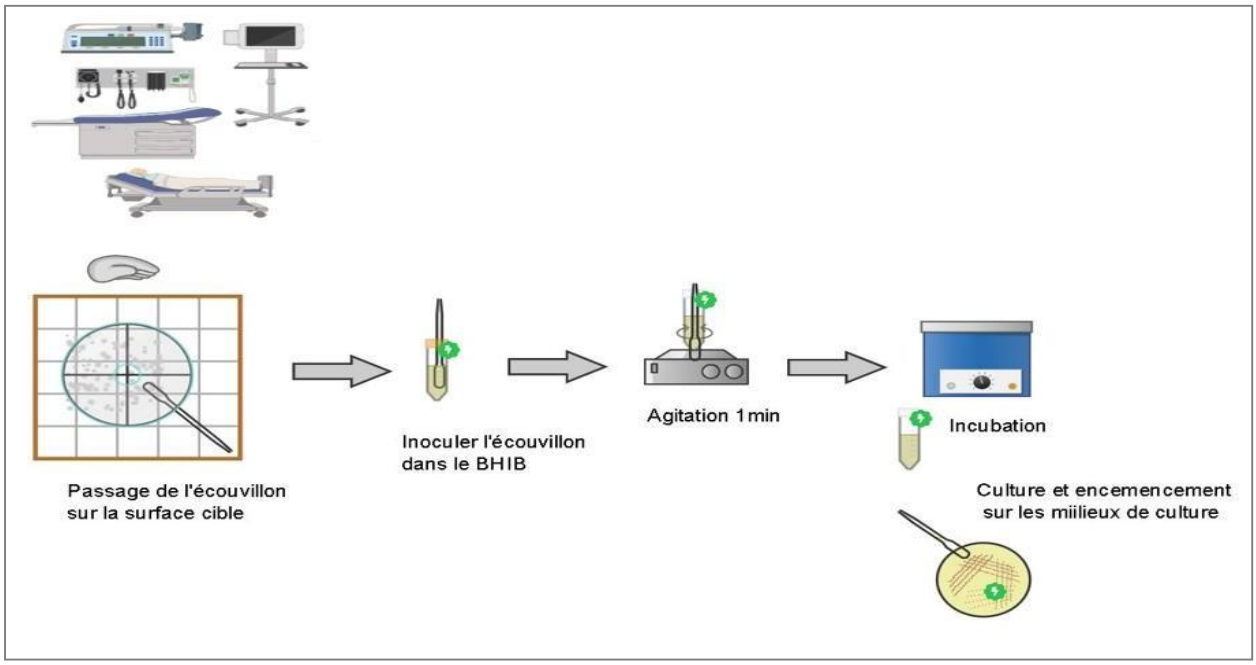

Figure 2 .1 : Processus de prélèvement des échantillons à partir des sites.

2.2.3. Isolement et purification

Après enrichissement dans du bouillon BHIB pendant 24h à 37°C, les bactéries ont été isolées et purifiées par repiquage successif sur gélose nutritive (GN), Hektoene (HK), Mac Conckey et gélose au sang cuit (GNc). Les boites sont ensuite incubées à 37°C, pendant 24h à 48 heures jusqu'à l'apparition de colonies.

Ainsi, les boites sont examinées selon l'aspect des colonies et la coloration Gram. Ensuite, on sélectionne les colonies à Gram négatif et on repique sur le même type de milieu jusqu'à obtention d'un isolat pure qui fera l'objet d'autres tests bactériologiques.

2.2.4. Identification des souches étudiées

La première identification est faite par l'observation macroscopique. Les boites sont examinées avec une description des colonies qui doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation.

L'identification enzymatique des BGN par le test d'oxydase considéré comme un test d'orientation permet la détection de la présence de l'enzyme cytochrome oxydase chez les souches isolées par oxydation de Tétraméthyl-p-phénylènediamine indiquant la présence d'une oxydase et de ce fait une différenciation préliminaire entre les BGN fermentaires et non fermentaires (BGnf) [181].

Pour cela, la recherche de l'oxydase a été réalisée avec des disques commercialisés prêts à l'emploi. On dépose le disque sur une lame porte-objet, puis on l'humidifie avec deux gouttes d'eau distillée stérile et on écrase la colonie testée sur le disque. La réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet.

Après réalisation des examens microscopiques et culturaux, l'identification biochimique préliminaire est réalisée par des galeries miniaturisées API10S.

L'identification biochimique des bacilles à Gram négatif ainsi recueillis se fait par deux méthodes : la première par système API-20E pour les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* et API-20NE pour les bactéries non fermentantes *Acinetobacter baumannii et Pseudomonas aeruginosa.*

Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur, les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec une suspension bactérienne d'opacité 0,5 sur l'échelle de Mac Farland, et pour les autres tests ; on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H_2S en remplissant leur cupule par l'huile de paraffine. Enfin, on incube à 37 C° pendant 18-24 heures. La lecture de l'API 20E nécessite de disposer de kits de

réactifs supplémentaires (TDA, Kovacs, VP1+VP2) et d'un tableau de lecture bioMérieux (Figure 2.2).

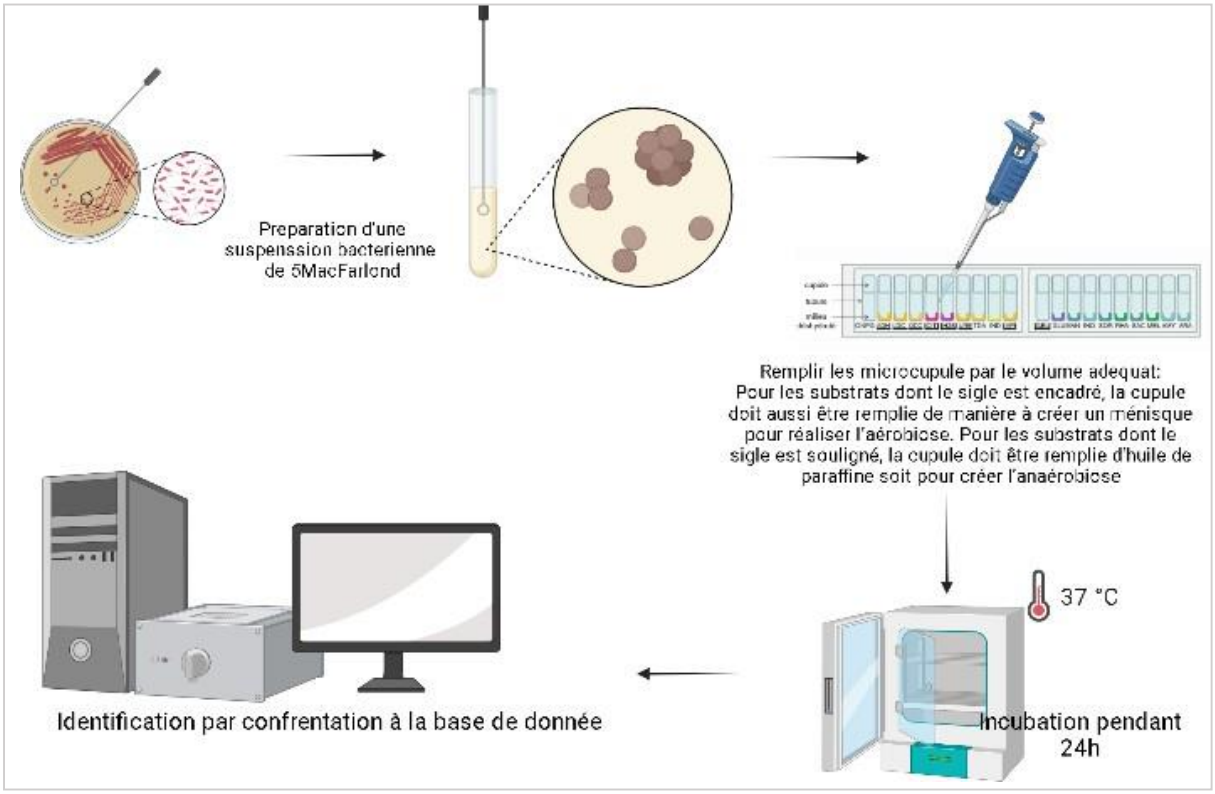

Figure 2.2 : Processus d'identification des souches isolées par la galerie API.

2.2.5. Conservation des souches

La conservation de courte durée des isolats purifiés a été réalisée par ensemencement par l'anse de platine sur gélose nutritive inclinée. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les tubes ont été conservés au réfrigérateur à 4°C.

La conservation de longue durée des souches a été réalisée par ensemencement dans le bouillon nutritif. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un volume de la suspension obtenue a été transféré dans des tubes Eppendorf, à l'aide d'une pipette Pasteur, avec 15 à 20 % du glycérol stérile. Chaque souche doit être conserver en plusieurs copies à - 20°C [182].

2.3. Etude de la sensibilité des bacilles Gram négatif aux antibiotiques

2.3.1. Caractérisation qualitative du profil de résistance des souches isolées

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques pour les souches isolées a été réalisée par un antibiogramme destiné à mesurer l'interaction entre chaque

antibiotique et la souche bactérienne. Le choix des antibiotiques testés est relatif au genre bactérien en prenant en considération le phénotype sauvage pour chaque souche et en suivant les recommandations du Clinical & Laboratory Standards Institute [182].

Les antibiotiques utilisés sont : Amoxicilline/acide clavulanique (AMC) (20/10 µg), Céfotaxime (CTX) (30 µg), Céfotaxine (FOX)(30 µg), ceftazidime (CAZ) (30 µg), Ciprofloxacine (CIP) (5 µg), Triméthoprime/Sulphaméthoxazole (SXT) (1,25/ 23,75 µg), Céfazoline (CF) (30 µg), Méropénème (MER) (10 µg), Imipénème (IMP) (10 µg), Ertapenem (ERT) (10 µg), Gentamicine (GN) (10 µg), Amikacine (AK) (30 µg), acide nalidixique NA (30 µg), Lévofloxacine (LEV) (5 µg), Ticarcilline + acide clavulanique (TCC) (75/10 µg), Tobramycine(TM) (10 µg), Pipéracilline (PIP) (100 µg). Tous les antibiotiques testés ont été fournis par BD USA.

La méthode repose sur le principe de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton [182], elle consiste à déposer à la surface de la gélose MH préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de 0,5 MacFarland par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter les boites de Pétri de 60 ° puis les disques pré imprégnés d'une dose connue des différents antibiotiques sont disposés sur la gélose, manuellement, avec une pince métallique stérile.

Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne.

Selon CLSI (2020), la lecture des diamètres permet de classer qualitativement les souches selon leurs profils de résistance en catégorie : Résistantes (R), intermédiaires (I) ou sensibles (S).

2.3.2. Caractérisation quantitative du profil de résistance des souches isolées

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration en antibiotique pour laquelle la croissance bactérienne n'est plus visible [182]. Après analyse des résultats de l'antibiogramme, une quantification du profil de la résistance par la détermination de CMI pour les antibiotiques suivants Ceftazidime, Céfotaxine, Imipénème, Méropénème, Amikacine, Ertapénème, Gentamicine, Ciprofloxacine et colistine a été réalisée, pour confirmer le profil de résistance pour chaque souche isolée.

Afin d'avoir une concentration précise ainsi qu'une meilleure diffusion de l'antibiotique tester, la CMI est déterminée en triplicata pour chaque souche selon deux méthodes suivant les directives du CLSI (2020) [182] :

- CMI en milieu gélifié [183].
- CMI en milieu liquide [183].

Dans un premier temps, une gamme de dilution est préparée à partir d'une solution mère à concentration 5120 µg/ml et 1024 µg/ml respectivement puis nous avons réalisé des dilutions semi logarithmique à raison de 2.

Nous avons préparé l'inoculum standard à 0,5 MF puis nous avons dilué au 1/10ème en ajoutant de l'eau physiologique.

Le tableau 2.4 résume le procédé des deux techniques.

Tableau 2.4 : Méthode de la CMI en milieu gélifié et liquide [183].

Technique	CMI en milieu gélifié	CMI en milieu liquide
Préparation du milieu de culture	Répartir 2ml de chaque dilution d'antibiotique dans la boite correspondante, puis compléter avec 18ml de MH liquéfié et homogénéiser délicatement afin d'obtenir une dilution 1/10ème dans chaque boite allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml.	Répartir 25µl de chaque dilution d'antibiotique dans la cupule en microplaque, puis supplémenter de 70µl du MHLAC. La concentration de l'antibiotique obtenue va ainsi de 512 µg/ml à 0,063 µg/ml.
Dépôt et distribution de l'inoculum	Dépôt de spot de 5 à 8mm à la surface de la gélose avec un applicateur de 2 µl. Marquer la boite de dilution pour localiser et identifier chaque spot.	Inoculer chaque cupule de la microplaque par 5 µl de la suspension bactérienne.
Incubation	37°C pendant 16-20 heures.	
Lecture	Noter la CMI	La CMI correspond à la 1ère cupule claire (pas de culture comparant au témoin sans antibiotique).

La teneur en calcium et en magnésium doit être rigoureusement contrôlée. À cet effet, nous avons employé des milieux préalablement ajustés en cations. Il est à noter qu'un excès de cations bivalents (Ca^{2+}, Mg^{2+}) peut inhiber l'activité des polymyxines, ainsi que La CMI de la colistine a été confirmée par les bandelettes de E-test aussi .

2.4. Caractérisation phénotypique des β-lactamases chez les souches résistantes

2.4.1. Recherche des β-lactamases à spectre étendu (BLSE)

Sur la base des résultats de l'antibiogramme et de la CMI et en cas de diminution de la sensibilité aux céphalosporines de troisième génération (Tableau 2.4), les BLSE sont mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération, selon les tests suivants (figure2.3) :

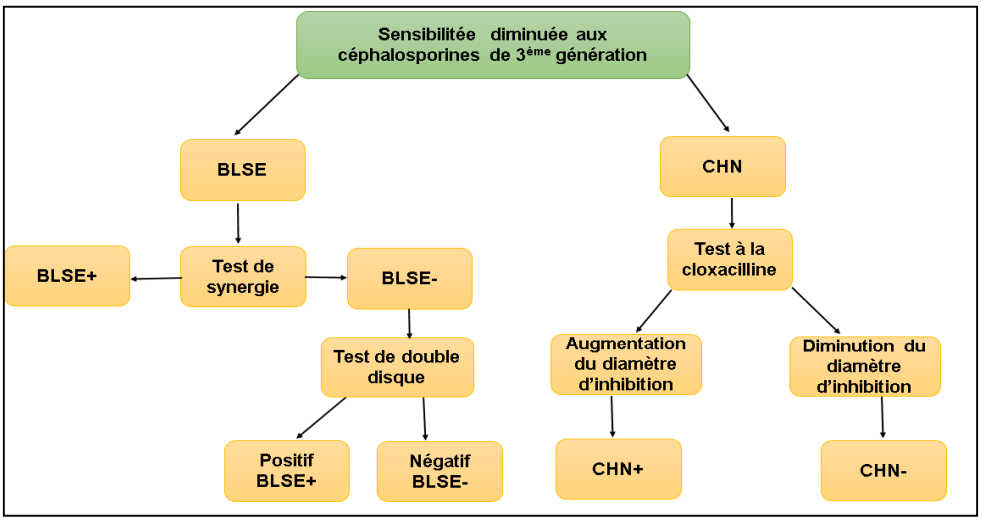

Figure 2.3 : Démarche de détection des souches BLSE et CHN.

BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Etendu, CHN **:** Céphalosporinases de Haut Niveau

2.4.1.1. Test de synergie

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A d'Ambler sont inactivées par les inhibiteurs des β-lactamase (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) [184].

Ce test consiste à la recherche d'éventuelles images de synergie en « bouchon de champagne » pouvant apparaître entre les disques d'une céphalosporine de 3ème génération ou un monobactam et celui de l'Amoxicilline-acide clavulanique (AMC) pour les *Enterobacteriaceae* ou la Ticarcilline-acide clavulanique (TCC) pour les BGN non fermentants.

La recherche des BLSE se fait dans les conditions de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+ acide clavulanique (AMC 20/10 µg) à 30 mm centre à centre d'un disque de CTX (30µg) ou CAZ (30µg). Après incubation (16-18h à 35°C), la BLSE

se traduit par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques : AMC et CTX ou AMC et CAZ.

2.4.1.2. Test du double disque

Ce test est fait devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3ème génération (C3G) [185].

Dans les conditions standard de l'antibiogramme, on dépose un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CAZ) à distance de 30 mm centre à centre, puis on laisse diffuser l'antibiotique pendant une heure, à la température ambiante. On remplace le disque d'amoxicilline + acide clavulanique par un disque de CTX ou CAZ. On incube les boites entre 16-18h [186].

Le test du double disque est considéré positif quand le diamètre d'inhibition autour du disque de céphalosporine de 3ème génération appliqué après diffusion du disque de l'Amoxicilline + acide clavulanique est supérieur ou égale à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de céphalosporine de 3ème génération (Figure 2.4) [186].

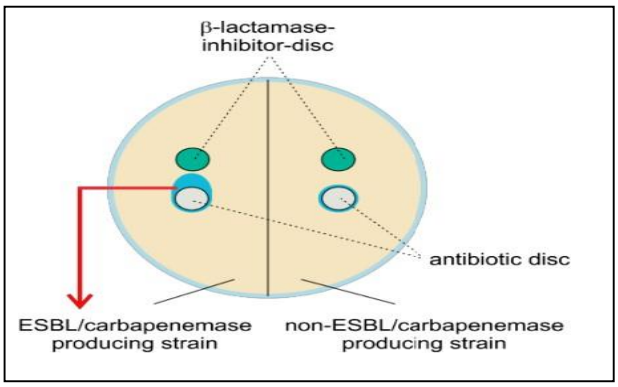

Figure 2.4 : Test de double disque [187]

2.4.1.3. Détermination de la CMI des céphalosporines de 3ème génération seules ou associées à l'acide clavulanique

La méthode est basée sur le principe de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les recommandations de CLSI (2020) [182]. Elle consiste à appliquer des bandelettes E-test combiné CTX et CTX + acide clavulanique à la surface de la gélose MH préalablement ensemencée par une suspension bactérienne de 0,5 MacFarland en stries très serrées en trois passages. La bandelette est prélevée à l'aide d'une pince

bactériologique stérilisée, le contact avec la pince doit se faire au niveau de l'extrémité marquée E ou non graduée, puis déposer la bandelette sur la surface gélosée, en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faible puis progressivement jusqu'aux concentrations les plus élevées.

Les valeurs des CMI des associations CTX + acide clavulanique ou CAZ + acide clavulanique doivent être inférieures de 3 dilutions par rapport aux valeurs des CMI CTX ou CMI CAZ seules [188].

2.4.2. Recherche des céphalosporinase hyper produites AmpC (CHN)

Chez les souches naturellement productrices de céphalosporinases et chez les souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, la présence d'une BLSE peut être masquée du fait de l'induction de la céphalosporinase par l'acide clavulanique[189].

La mise en évidence des céphalosporinases hyper produites est faite essentiellement par le test à la cloxacilline [190].

Ce mécanisme de résistance est suspecté lorsqu'il existe une résistance acquise aux C3G avec un test de synergie négatif.

La cloxacilline, ajoutée au milieu pour l'antibiogramme (MH), inhibe in vitro les CHN et révèle les autres mécanismes de résistance (pénicillinase et BLSE). A partir du tableau 2.5, l'antibiogramme pour les β-lactamines sera réalisé simultanément sur MH et MH additionné de cloxacilline [182].

Tableau 2.5 : Préparation des boites de cloxacilline [182].

	Entérobactéries groupe 1 et 2	**Entérobactéries groupe 3**	***Pseudomonas aeruginosa***	***Acinetobacter baumannii***
Concentration en cloxacilline	0,5 mg/ml (500 mg/l)	1 mg/ml (1000 mg/l)	2 mg/ml (2000 mg/l)	1 mg/ml (1000 mg/l)
Préparation de la solution de la cloxacilline	50 mg de cloxacilline + 10ml d'eau distillée	100 mg de cloxacilline + 10ml d'eau distillée	200 mg de cloxacilline + 10ml d'eau distillée	100 mg de cloxacilline + 10ml d'eau distillée
Pour une boite de 90mm de diamètre	Mélanger 2ml de la solution cloxacilline avec 18ml de gélose MH et bien homogénéiser par rotation sous forme huit.			

Le test est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline et celui réalisé sur MH sans cloxacilline, en notant la différence du diamètre d'inhibition autour des céphalosporines de 3ème génération entre les deux tests. Absence de synergie entre l'AMC et les C3G.

2.4.3. Recherche de carbapénèmases

Les souches qui présentent une diminution de la sensibilité aux carbapénèmes, doivent faire l'objet de recherche de carbapénèmases.

Selon les dernières modifications de CLSI (2020), nous avons procédé pour chaque genre au screening des carbapénèmases selon les méthodes présentées dans la Figure 2.5 :

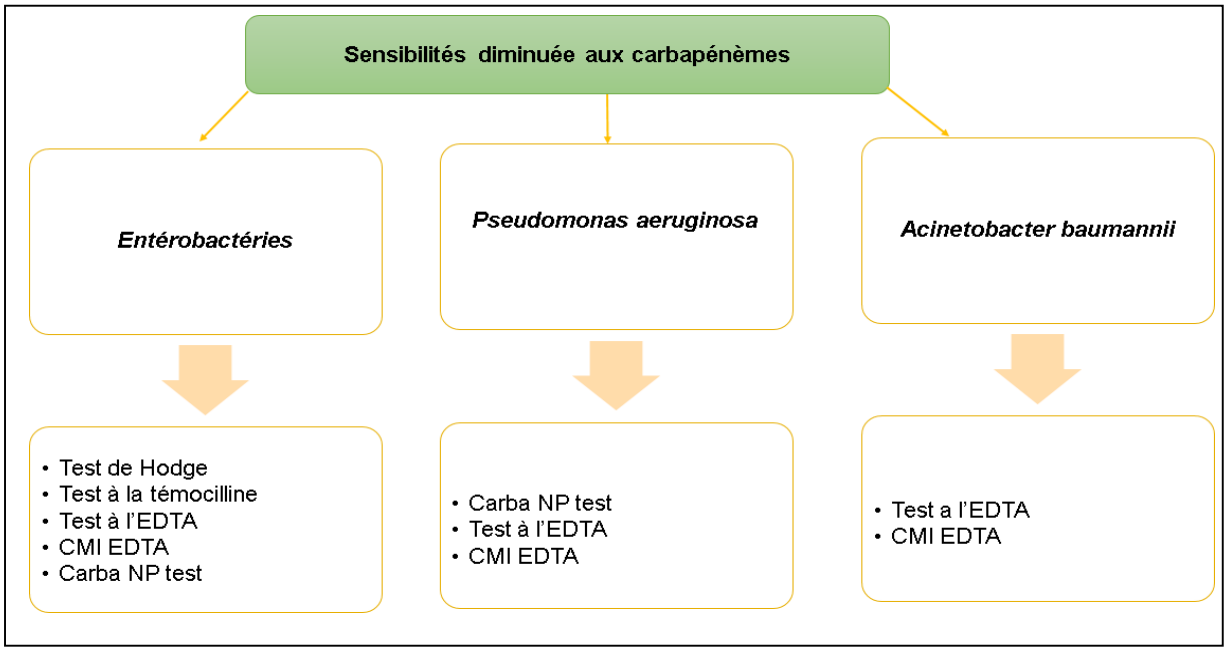

Figure 2.5 : Screening des carbapénèmase chez les souches isolées .

2.4.3.1. Test de Hodge modifié

La détection de la présence des carbapénèmases (classe A, B et D) est basée sur l'inhibition de l'activité des carbapénèmases vis-à-vis d'une souche indicatrice sensible (*E.coli* ATCC 25922) lorsqu'elle est en contact d'une souche productrice de carbapénèmase (souche à tester) [191].

Dans un premier temps, on prépare un inoculum de densité 0.5 Mc Farland dilué au 1/10 de la souche indicatrice puis ensemencer à la surface d'une gélose MH. On dépose un disque d'ertapénème ou meropénème au centre la boite ensemencée, puis on ensemence les souches en stries radiales à partir de colonies suivantes :

- Souche témoin positif : souche clinique test de Hodge positif
- Souche témoin négatif : *E.coli* ATCC 25922
- Souche testée.

Après Incubation à 35- 37°C pendant 16 à 20 heures (figure 2.6), la déformation de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture *d'E. coli* indique la présence d'une carbapénèmase [182].

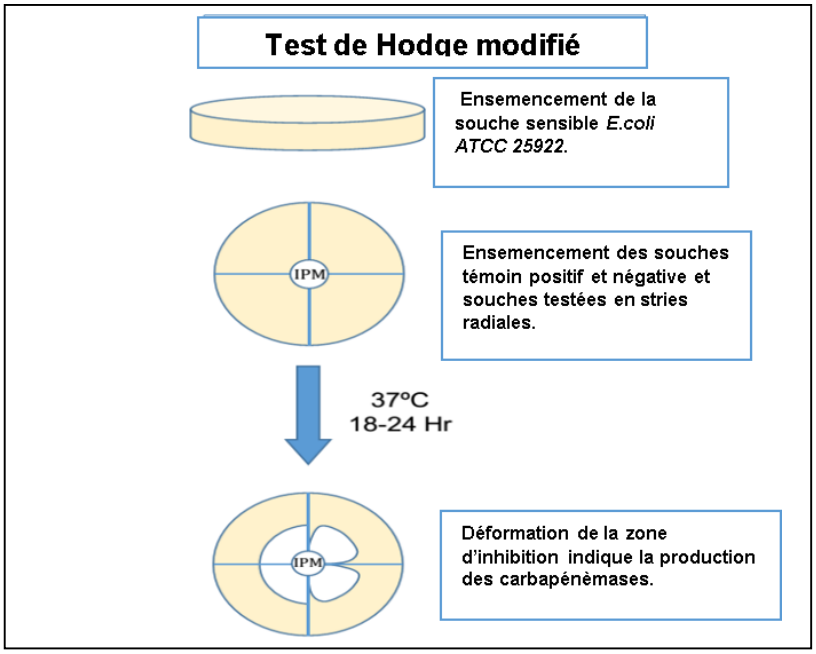

Figure 2.6: Test de Hodge modifié [187].

2.4.3.2. Carba NP test:

Le Carba-NP-Test est un test biochimique colorimétrique permettant de mettre en évidence la production des carbapénèmases (classes A, B, ou D). Depuis sa découverte en 2012 et très récemment en 2015, Bakour et al. (2015) [192] ont ce test. Le protocole a subi des modifications, en plus d'amélioration du temps et l'obtention des résultats ont conduit au développement du Carba NP-Test modifié (MCNP test).

Le principe du Carba-NP-Test est basé sur la mise en évidence d'une acidification du milieu due à la dégradation de l'IPM in vitro par les bactéries lysées, ceci est possible par la détection du changement du pH en utilisant un indicateur de couleur (le rouge du phénol) en observant un virage du rouge vers le jaune ou l'orange. Il se réalise sur des souches provenant des antibiogrammes qui ont été effectués sur gélose MH [193].

Dans un premier temps, 100µl de tampon de lyse tris-HCl 20mM est réparti dans deux Eppendorf (A et B) d'une contenance de 1,5 ml, puis on dissout dans chaque tube 3 à 5 colonies de la souche à tester, bien homogénéiser la suspension obtenue.

On ajoute 100 µl de solution de rouge de phénol 0,1 mM (pH = 7,8 et contenant du ZnSO4 à 0,1 mM) au tube A et 100µl de la même solution additionnée de 6mg/ml d'imipenème au tube B, puis incuber à 35C° pendant une durée maximale de 2h.

L'interprétation de ce test se fait selon le virage de couleur au niveau des deux tubes comme l'indique le Tableau 2.6 :

Tableau 2.6 : Interprétation de la réaction colorimétrique du Carba NP test [182].

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge/ rouge orangé	Rouge/ rouge orangé	Pas de production de Carbapénèmase
Rouge/ rouge orangé	Jaune – orangé/ jaune	Production de Carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable

2.4.3.3. Test à l'EDTA

Ce test phénotypique consiste à mettre en évidence la production des carbapénèmases de la classe B d'Ambler (métallo-β-lactamases VIM, NDM et IMP) sensible à l'action de l'EDTA (Ethyléne Diamine Tetra acétic Acid), agent chélateur qui chélate les ions du zinc (Zn^{++}) [194].

Ce test consiste à ensemencer, à l'aide d'un écouvillon, une suspension (de 0.5 Mc Farland de densité optique) des souches à tester sur une gélose Mueller Hinton comme pour la réalisation d'un antibiogramme selon les recommandations CLSI, 2020, ensuite deux disques d'ertapénème (Imipenème) (10µg) dont l'un additionné de 5µl d'EDTA (solution 0,5M, pH=8) sont placés à une distance de 4cm environ (centre à centre) l'un de l'autre. Après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques sont mesurés et comparés [182].

- Les souches dont le diamètre d'inhibition, autour du disque ETP-EDTA (IMP-EDTA) est supérieur à celui obtenu avec le disque de l'ETP (IMP) seul d'au moins 7mm, sont considérées comme productrices de métallo-β-lactamases.

- Une réduction de la concentration minimale inhibitrice de l'imipenème en présence de l'EDTA d'au moins 3 gradients ou lorsque le ration CMI imipenème seul / imipenème + EDTA est supérieur à 8 est observé (Figure 2.7).

De la même manière, pour la CMI, on dépose une bandelette E-test imipenème/ imipenème+ EDTA.

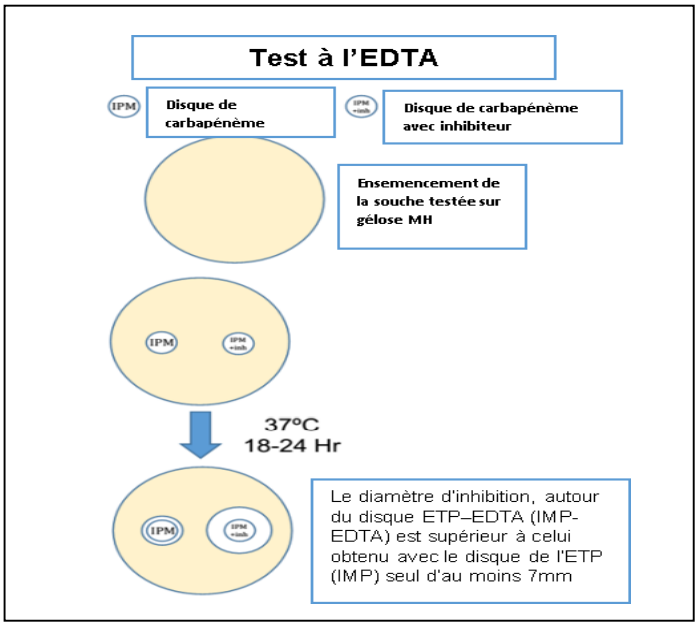

Figure 2.7: Test à l'EDTA [187].

2.4.3.4. Test à la témocilline

Ce test permet la détection des carbapénèmase de type OXA-48 qui dégrade à haut niveau la témocilline [195]

Sur une la gélose MH, on ensemence par écouvillonnage une suspension de 0,5 McF, puis on dépose un disque de témocilline (10µg) sur la gélose, on incube pendant 18-24h à 35°C [182].

Si le diamètre d'inhibition est inférieur à 12mm, la souche est considérée comme potentiellement productrice d'OXA-48.

2.5. Caractérisation génotypique des β-lactamases chez les souches résistantes

Cette partie de l'étude a été consacrée à la caractérisation moléculaire de la résistance aux β-lactamines identifiées phénotypiquement en respectant les étapes suivantes (figure 2.8).

Les bacilles Gram négatives isolés ont été classés en cluster selon la prévalence et la répétition du profil de résistance dans la même espèce. Ainsi, l'étude moléculaire a concerné vingt-un souches présentant les profils de multirésistance et représentatives de chaque cluster (Tableau 2.7).

Le choix des souches pour le typage moléculaire repose sur deux critères de sélection essentiels. Tout d'abord, il est crucial de privilégier les souches isolées dans des sites à risque élevé de transmission croisée, tels que les unités de soins intensifs ou les services de chirurgie, où la probabilité de diffusion des gènes de résistance est accrue. Ce contexte favorise la circulation de souches potentiellement dangereuses et permet d'étudier les dynamiques de transmission. En second lieu, il est important de sélectionner des souches présentant un profil de résistance distinct et pertinent, qu'il soit unique ou combiné. Cela permet d'analyser les mécanismes de résistance et d'identifier les souches qui pourraient représenter une menace pour la santé publique. Ensemble, ces critères garantissent une approche ciblée et efficace pour le typage moléculaire, facilitant ainsi la surveillance et le contrôle des infections.

Tableau 2.7: Détection des carbapénèmases selon les tests complémentaires [182].

	Test de Hodge modifié	Test EDTA	Test témocilline
Carbapénèmase de classe A (KPC)	Positif	Négatif	Négatif
Carbapénèmase de classe B (VIM,IMP,NDM)	Positif	Positif	Négatif
Carbapénèmase de classe D (OXA-48)	Positif	Négatif	Positif

La figure 2.8 montre les principales étapes.

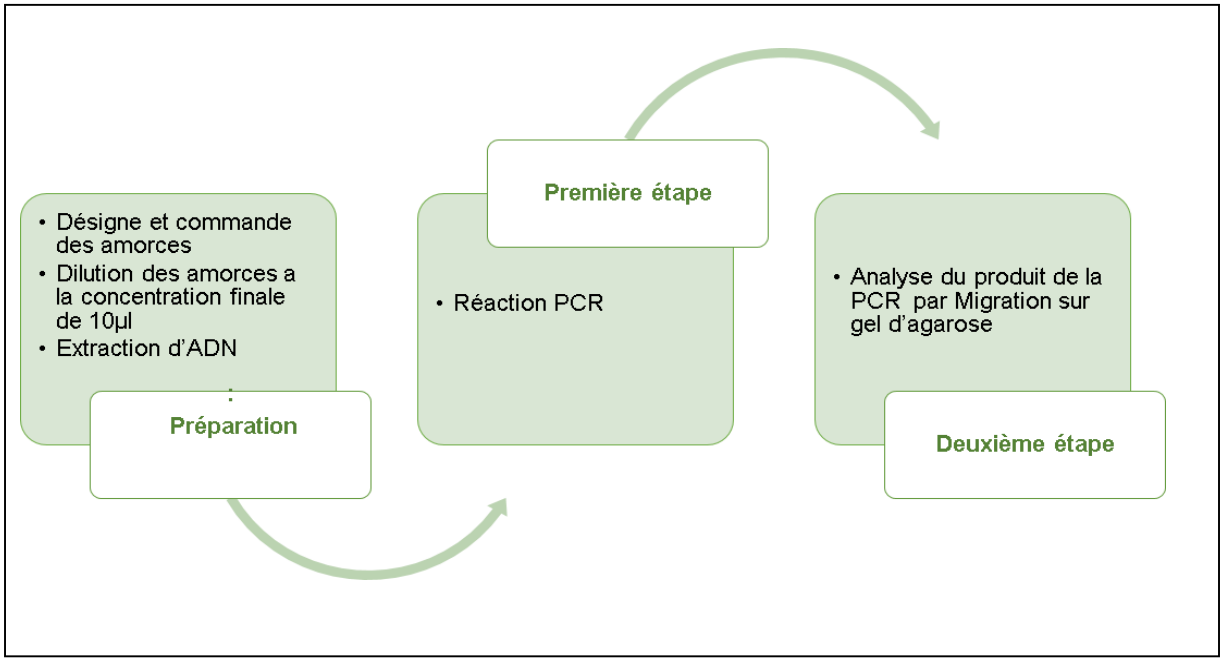

Figure 2.8: Etapes suivies dans la caractérisation génotypique.

Extraction d'ADN :

L'extraction d'ADN à partir des colonies fraichement cultivées par la méthode phénol-chloroforme selon le protocole effectué par Morono et al (2014) [196]. Dans unpremier temps, le culot généré dans la phase préparatoire a été mélangé avec 500µl du tampon de lyse alcaline constitué de :1 ml EDTA ;1ml SDS ;200µl NAOH. Cette solution est préchauffée avant utilisation puis le tout est incubé à 70°C pendant 20 min, par la suite, centrifuger pendant 1min à 1000 rpm à température ambiante. Après, on récupère le surnagent produit dans un nouveau microtube de 1,5 ml. Le pH du surnageant est neutralisé pendant 4min par une solution Hcl-Tris (1M Hcl;0.3M tric-Hcl). Ensuite, on centrifuge à 15000 rpm à la température ambiante pendant 4min, puis on transfère le surnageant dans un autre tube auquel on ajoute 500 µl de phénol/chloroforme/isoamyl alcool (25 :24 :1, v/v/v). La phase aqueuse est recueillie après centrifugation à 15000 rpm/4min à température ambiante.

Pour précipiter les acides nucléiques, on ajoute 500µl d'acétate de sodium et 200µl d'éthanol glacé (-20°C). L'ADN se dépose au fond du tube à essai. Pour le récupérer, on élimine le surnageant par centrifugation à 15000 rpm à froid (4°C) pendant 30min. Par la suite, la solution d'extraction est séchée et éliminée par évaporation, ainsi l'extrait d'ADN est suspendu dans un 1ml du tampon TE (3mM EDTA ph 8;10mM tris), à la fin la lecture s'est faite à 260/280 nm par un spectrophotomètre pour déterminer la pureté et la concentration de l'ADN obtenu.

Détection des gènes de résistance par polymerase chain reaction « PCR »

Le gène à BLSE *bla*$_{CTX-M}$ et les gènes de résistance aux carbapénèmes *bla*$_{KPC}$ et *blaNDM* sont détectés par une simple PCR, en suivant le protocole décrit par Kirstie Canene-Adams en 2013[197].

La réaction d'amplification des gènes a été effectuée dans un thermocycleur (T3000 Biometra) à un volume final de 15 µL contenant 7,5 µL de 2 x HotStarTaq PCR Master Mix, WIRAGEN, 1 µL de chaque amorce (0,2 µM), 1 µL d'échantillon d'ADN (300 ng) et 5,5 µL d'eau sans nucléase.

Les paramètres de cycle PCR pour la réaction étaient : dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes suivie de 35 cycles chacun de dénaturation à 94°C pendant 30s, hybridation pendant 90s, la température d'hybridation est calculée selon la T_m de chaque amorce, extension à 72°C pendant 90s et extension finale à 72 °C pendant 10 minutes.

Les amorces utilisées dans la détection des β-lactamase à spectre étendu et les carbapénèmases sont illustrées dans le Tableau 2.8.

Tableau 2.8: Amorces utilisées dans la détection des β-lactamase à spectre étendu et les carbapénèmases.

Gène	Amorce	Séquence des amorces (5'-3')	Taille d'amplicon pb	Référence
bla$_{CTX-M}$	CTX-M- F	CGCTGTTGTTAGGAAGTGTG	754	[198]
	CTX-M- R	GGCTGGGTGAAGTAAGTGAC		
bla$_{KPC}$	KPC-F	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798	[199]
	KPC-R	CTTGTCATCCTTGTTAGGCG		
bla$_{NDM}$	NDM-F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC	621	[199]
	NDM-R	CGGAATGGCTCATCACGATC		

Electrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel est une méthode de séparation des macromolécules en fonction de leur taille et leur charge électrique. Pour vérifier la présence et l'amplification du gène cible, les produits de PCR sont déposés sur un gel d'agarose à 1% dans une cuve à électrophorèse.

Le protocole de préparation du gel d'agarose est le suivant : 1.5g d'agarose est dissoute dans 150 ml de tampon TBE 1X avec un chauffage aux microondes, puis le gel est coulé dans le support du gel en présence des peignes qui permettent la formation des puits, et laissé refroidir jusqu'à solidification. Après polymérisation, les peignes sont retirés et le gel est placé dans la cuve d'électrophorèse remplie avec le tampon TBE (le gel doit être totalement émergé).

Electrophorèse des produits d'amplification : Ensuite, on dépose 10µL du produit de PCR mélangé avec 2 µl de tampon de charge. Le mélange est ensuite transféré vers les puits, puis la cathode est branchée du côté des puits sous une tension de 80 V pendant 40 minutes.

Révélation des bandes d'ADN aux rayons ultra-violet : le gel d'agarose est ensuite exposé sous rayons ultra-violet pour visualiser les bandes. Les bandes obtenues sont comparées avec le poids moléculaire du gène et celle du témoin positif.

Un marqueur de poids moléculaire en échelle de 100 pb (Wiragen) a été utilisé pour mesurer le poids moléculaire des produits amplifiés.

2.6. Potentiel de formation du biofilm par les souches isolées

La caractérisation des souches productrices de biofilm est faite selon la démarche présentée par la figure 2.9. Toutes les souches ont été testées en triplicata.

Dans un premier temps, les souches sont soumises à des tests qualitatifs afin de cibler les souches productrices et non productrices du biofilm.

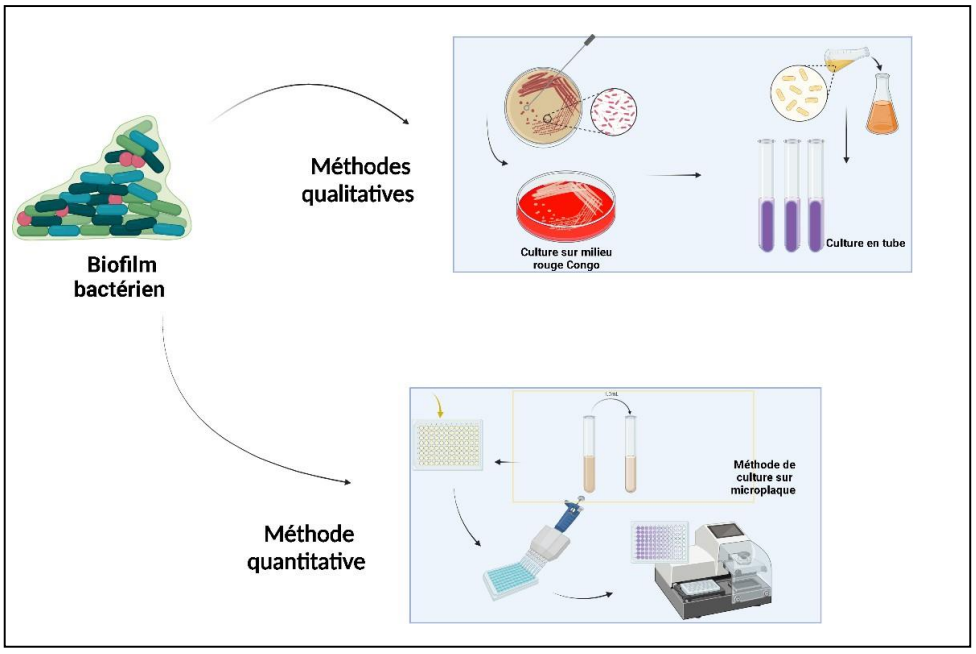

Figure 2.9: Caractérisation du biofilm bactérien chez les souches isolées.

Test de Rouge Congo

Ce test décrit par Mathur et al., 2006 [200] permet de détecter les souches productrices du biofilm par une simple culture sur la gélose rouge Congo, grâce à une réaction qui se fait entre les exo-polysaccahrides formés par les bactéries et le rouge Congo. Le milieu est préparé avec 38 g/l de bouillon cœur cervelle (BHIB), 20g/l de saccharose, 0,8 g/l de Rouge Congo et 10 g/l d'agar. Le milieu est autoclavé à 115°C pendant 15min.

A partir d'une culture jeune, on prélève quelques colonies isolées et identiques à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis l'ensemencer sur la gélose rouge Congo par la méthode des quatre quadrants afin d'avoir des colonies bien isolées, ensuite incuber à 37°C pendant 16 à 24h.

Les souches productrices de slime donnent des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges, à surface lisse pour les souches non productrices. Les souches de phénotype variable donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir.

- **Méthode de culture en tube**

C'est une technique qui permet une évaluation qualitative de la formation du biofilm décrite par Christensen et al., 1982 [201]. A partir d'une boite de culture de 24h, ensemencer une colonie dans 10ml de bouillon Brain Heart Infusion Broth (BHIB) supplémenté de 2% de saccharose puis incubé à 37°C pendant 24h. Après incubation les tubes de culture sont rincés avec le tampon phosphate salin PBS (pH=7,3) et sont séchés. Ensuite on colore chaque tube par le cristal violet (0,1%) pendant 5 minutes. L'excès de colorant est supprimé et les tubes ont été lavés avec de l'eaudistillée, puis séchés en position renversée.

La formation de biofilm est considérée comme positive si un film visible double recouvre la paroi et le fond du tube et la présence d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la présence de biofilm.

La formation de biofilms est notée de 0 pour absent, + pour faible, ++ pour modéréet +++ pour fort [201].

- **Méthode de culture sur microplaque (TCP)**

La technique TCP décrite par Stepanovic et al. (2007) [202] est une évaluation semi quantitative de la formation du biofilm. Les souches sont cultivées sur gélose trypticase soja (TSA) avec 2% de glucose et incubées pendant 24 heures à 37°C, puis une colonie a été transférée dans un tube contenant 10 ml du bouillon trypticase soja (TSB) avec 2% de glucose et incubés à 37°C pendant 24 heures.

Les cultures ont été ensuite diluées à raison de 1/100 avec du milieu (TSB) stérile et 200 µl de chaque suspension bactérienne a été inoculée en triplicata, dans les puits d'une microplaque. Un bouillon stérile a été utilisé comme témoin, également dilué incuber et introduit dans la plaque pour vérifier la stérilité. Les microplaques ont été incubées pendant à 37°C pendant 24 heures.

Les suspensions bactériennes sont aspirées et les puits ont été lavés trois fois avec 200 µl de solution tampon (PBS) pour éliminer les bactéries planctoniques. Les biofilms formés ont été fixés avec 200 µl d'éthanol pendant 15 minutes puis les microplaques sont séchées à la température ambiante puis colorées avec 200 µl de solution de cristal violet à 2% pendant 5 minutes. L'excès de colorant a été rincé par lavage à l'eau distillée et les plaques séchées à la température ambiante.

Ainsi les bactéries colorées avec le cristal violet sont solubilisées avec 200 µl d'éthanol à 95% et l'absorbance a été lue en utilisant un lecteur ELISA(Biotech) (spectrophotomètre couplé en ordinateur intégré du logiciel KC Junior) à la longueur d'onde 570 nm. L'expérience a été répétée trois fois.

Les valeurs de la densité optique sont proportionnelles aux potentiels de formation du biofilm, ainsi la moyenne de la DO de contrôle négatif a été calculée et soustraite de tous les DO des différents tests.

Les souches sont classées dans les catégories suivantes :

Tableau 2.9 : Classification de la formation de biofilm [202]

Moyenne des valeurs de DO	Formation de biofilm
DO lue ≤ DOnc	-
DOnc < DO lue ≤ 2XDOnc	±
2XDOnc < DO lue ≤ 4XDOnc	+
DO lue > 4XDOnc	++

Notes : - = Absence ; ± = faible ; + = Modérée ; ++ = Forte ; DOnc : la moyenne des DO des contrôles négatifs

2.7. Indice de multirésistance (IMR) (MAR index= multiple-antibiotic-resistance (MAR) index)

L'indice de résistance aux antibiotiques multiples (IMR) de chaque souche a également été calculé en utilisant l'équation fournie par Singh et al. (2010) [203], comme suit :

$$\text{Indice IRM} = \frac{\text{Nombre total des ATBs auxquels la bactérie est résistante}}{\text{Nombre total des ATBs testés}}$$

Cet indice est une mesure de l'étendue de la résistance aux antibiotiques dans une souche bactérienne, indiquant la proportion des ATBs auxquels la bactérie présente une résistance par rapport au nombre total testé.

Cet indice varie ente 0 et 1, dont une souche est considérée comme multirésistante lorsque le IMR est supérieur à 0,5 (IMR>0,5).

2.8. Analyse statistique

L'analyse statistique descriptive a été effectuée à l'aide de Microsoft Excel 2016. La recherche d'une éventuelle corrélation entre le profil de résistance, les gènes recherchés, ainsi que le potentiel de formation du biofilm par les souches résistantes a été réalisée avec le logiciel OriginePro V.24.

Pour utiliser OriginePro V.24 pour un test de corrélation, on commence par importer les données en les organisant dans des colonnes distinctes. on Visualise les relations entre les variables avec des graphiques de dispersion pour une première évaluation. Ensuite, on accéde au menu "Statistiques", on sélectionne "Analyse de corrélation", et on choisisse les variables et le type de test (comme Pearson ou Spearman). Enfin, on interpréte le coefficient de corrélation et sa signification statistique pour tirer des conclusions sur la relation entre les variables.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

Sur une période s'étalant sur près de trois années, des souches bactériennes ont été isolées et identifiées à partir d'échantillons prélevés sur des surfaces et des dispositifs médicaux dans divers services de plusieurs établissements hospitaliers localisés dans la wilaya de Blida. L'étude a porté sur l'analyse des profils de résistance aux antibiotiques afin de mettre en évidence les mécanismes particuliers de résistance présents au sein de ces souches.

Les résultats sont exposés en détail dans la section qui suit.

3.1. Répartition des prélèvements

Pendant la période d'étude, un total de 851 échantillons (surfaces et équipements médicaux) a été prélevé. Parmi ceux-ci, 594 tubes présentaient un trouble, ce qui représente un pourcentage de positivité de 69,80 %. Les 257 prélèvements restants étaient négatifs, correspondant à un pourcentage de 30,19 % de négativité par rapport à l'ensemble des prélèvements effectués.

La répartition des prélèvements positifs et négatifs entre les différents établissements hospitaliers est présentée dans le tableau 3.1.

La répartition ainsi que les fréquences de contamination pour chaque site sont détaillées en appendice F.

Tableau 3.1 : Répartition des prélèvement positifs et négatifs au niveau des différents établissements hospitaliers

Etablissement	Services	P	P+	P-	Total	Taux De contamination
CHU Frantz Fanon	Réanimation	106	259	112	371	69,81%
	Neurochirurgie	126				
	Traumatologie	97				
	CAC hématologie	42				
EPH Boufarik	Gynécologie	90	206	74	280	73,57%
	Néonatologie	190				
EPH Brahim Tirichine	Médecine interne Diabétologie	40	44	36	80	55%
	Médecine interne Pneumologie	40				
EPH AL AFFROUN	Gynécologie	120	85	35	120	70,83%

P : Prélèvement

La distribution des contaminations en fonction du type de prélèvement dans les divers services échantillonnés est présentée dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Répartition des contaminations des surfaces et des dispositifs médicaux au niveau des services étudiés

Etablissement	Services	Surfaces	Dispositifs médicaux
CHU Frantz fanon	Réanimation	49% (n=35)	51%(n=37)
	Neurochirurgie	57,1%(n=48)	42,9%(n=36)
	Traumatologie	62,5%(n=45)	37,5%(n=27)
	CAC hématologie	87%(n=27)	13%(n=4)
EPH Boufarik	Gynécologie I	60,9%(n=53)	39,1%(n=34)
	Néonatologie	69,7%(n=83)	30,3%(n=36)
EPH Brahim Tirichine	Médecine interne Diabétologie	94%(n=17)	6%(n=1)
	Médecine interne Pneumologie	92,3%(n=24)	7,7%(n=2)
EPH AL AFFROUN	Gynécologie II	68,2%(n=58)	31,8%(n=27)

3.2. Identification phénotypique des souches isolées

Aspect macroscopique et microscopique

Le biotypage des colonies effectuées sur divers milieux de culture a permis une première orientation quant à leur appartenance à un groupe bactérien, tel que les entérobactéries, *Pseudomonas, Acinetobacter*, ou d'autres bacilles à Gram négatif (BGN), comme le montre la figure 3.1.

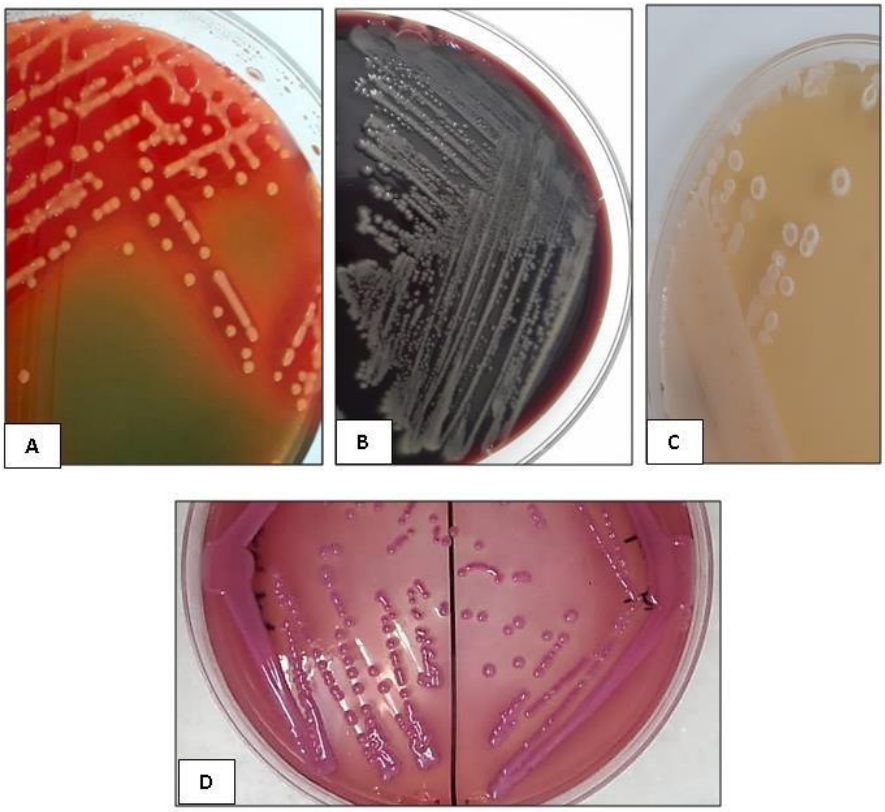

Figure 3.1 : Aspect macroscopique des souches isolées sur les différents milieux de culture.

A : Hektoen ;B : Gélose au sang cuit ; C : Gélose nutritive ;D : MacConkey

Après observation microscopique (figure 3.2), un total de 494 souches bactériennes a été isolé, dont 200 (40,48%) appartiennent au groupe des bactéries Gram + et 294 (59,51%) aux bactéries Gram -.

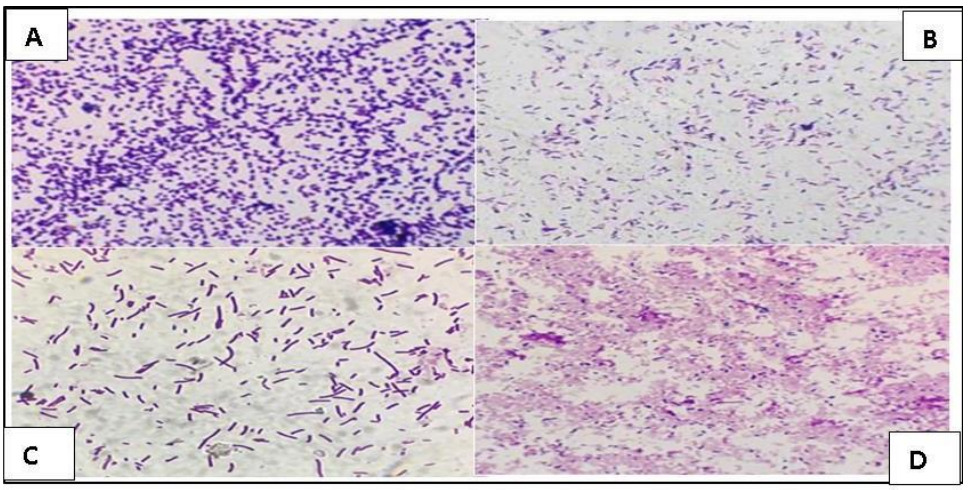

Figure 3.2 : Observation microscopique des frottis bactériens des prélèvements Gr 10X10.

A: Cocci Gram positif ; B:Bacille Gram négatif ; C: Bacille Gram positif ; D: Mélange bacille Gram négatif et cocci Gram positif.

Identification biochimique

L'identification biochimique des souches Gram négatif a révélé une prédominance des entérobactéries, représentant une fréquence d'isolement de 187 (63,61%), comparativement aux autres groupes de bactéries Gram négatives. Les BGNnf étaient également présents, mais à une fréquence moindre, soit un taux de 90 (30,61%). D'autres BGN comme *Flavimonas horyzihabitans, Aeromonas salmonicida Chryseomonas luteola Pasteurella muktocida et Raoutella ornithiolytica* étaient présents avec n=17 (5,78%) (figure 3.3).

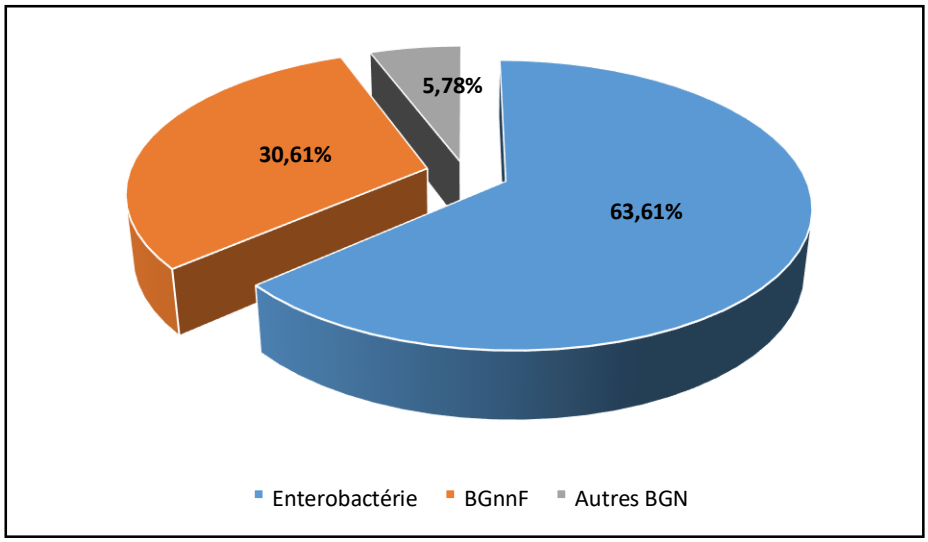

Figure 3.3: Répartition des souches Gram négatives isolées.

Selon la figure 3.4, on constate que la plupart des bactéries Gram négatives ont été principalement isolées à partir des échantillons de surface.

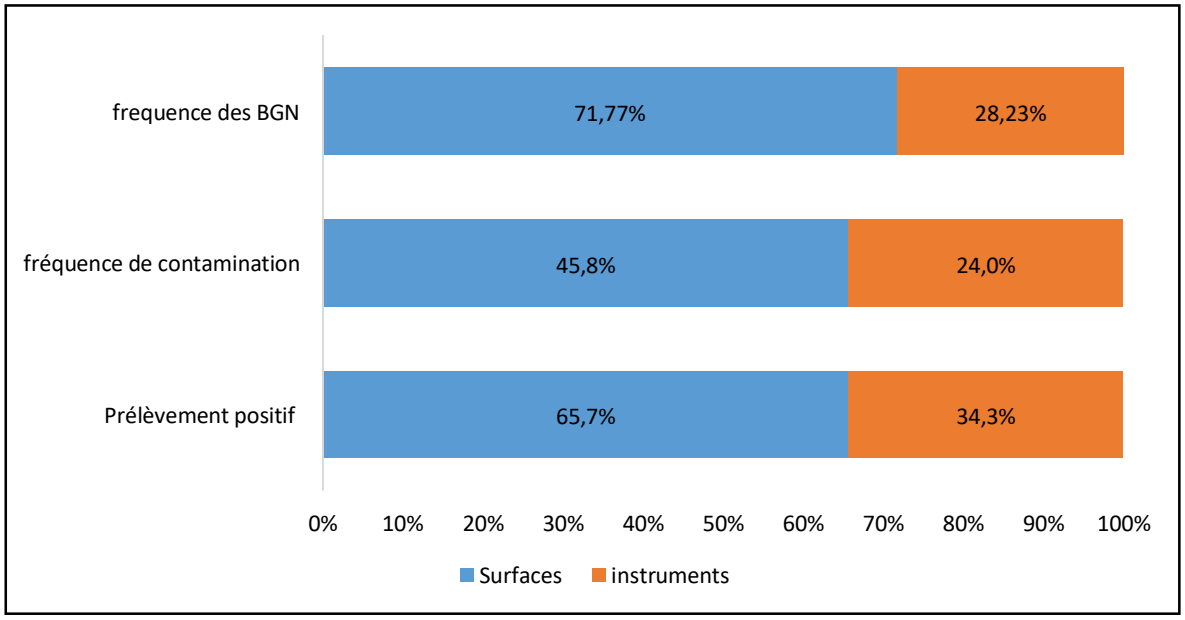

Figure3.4 : Répartition des BGN isolées en fonction des sites de prélèvement.

3.3. Répartition des bactéries Gram négatives

3.3.1. Répartition des bactéries Gram négatives par groupe

Les souches isolées révèlent une diversité remarquable de genres et d'espèces bactériennes en raison de la nature polymicrobienne des prélèvements. Grâce à l'analyse biochimique, nous avons pu identifier au total 16 genres et 25 espèces bactériennes. Le tableau 3.3 détaille la répartition des souches Gram négatives isolées au cours de cette étude.

Les espèces les plus fréquentes étaient *Klebsiella pneumoniae*, avec une fréquence de 59 sur 294 (19,72%), suivie de *Enterobacter cloacae*, représentant 48/294 (16,32%).

En outre, des espèces moins fréquentes en milieu hospitalier ont été identifiées, constituant une fréquence de 12,96% (38/294). Parmi celles-ci, on note *Citrobacter freundii* avec une fréquence de 2,38% (7/294), *Proteus mirabilis* avec 3,75% (11/294), *Ewingella americana et Cedecea lapagei* avec 0,34% (1/294) chacune, ainsi que *Pantoea spp et Hafnia alvei*, avec une fréquence de 3,07% (9/294).

Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

Groupe	Espèce	N° de la souche	Services	Surfaces	Dispositifs médicaux
Klebsiella	***Klebsiella oxytoca***	*Koxy* 01	Réanimation	Chaise roulante	-
		Koxy 02		Porte	-
		Koxy 03	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
	Klebsiella terrigena	*Kter*1	Gynécologie (Boufarik)	Fenêtres	-
		Kter 2	Néonatologie	Sol	-
		Kter 3		Chaise	-
		Kter 4		-	Biberon
	K.pneumoiae	Kr1	Réanimation	Lits	-
		Kr2		Lits	-
		Kr 3		Lits	-
		Kr 4		-	Echographe
		Kr 5		Potence	-
		Kr 6		Potence	-
		Kr 7		-	Scope
		Kr 8		-	Scope
		Kr 9		-	Seringue électrique
		Kr 10		Table	-
		Kr 11		-	Seringue électrique
		Kr 12		-	Seringue électrique
		Kr 13		Table	-
		Kr 14		-	Tayaux d'aspiration
		Kn1	Neurochirurgie	Table opératoire	-
		Kn2		-	respirateur
		Kn3		-	respirateur
		Kn4		Table opératoire	-
		Kn5		-	Bocal d'Aspiration
		Kn6		Table opératoire	-
		Kn7		-	Bocal d'Aspiration
		Kn8		-	Bocal d'Aspiration
		Kn9		-	respirateur
		Kn10		-	respirateur
		Kn11		-	respirateur
		Kn12		-	Bocal d'Aspiration
		Kn13		-	Lits
		Kn14		-	Lits
		Kn15		-	Tuyau d'Aspiration
		Kn16		Table opératoire	-

Suite du Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

		Kn17		Table opératoire	-
		Kn18		-	Boite d'instrument
		Kn19		-	Tuyau d'Aspiration
		Kn20		-	Respirateur
		Kn21		-	Respirateur
		Kn22		-	Bocal d' Aspiration
		Ktr 1	Traumatologie	Lits	-
		Ktr 2		Lits	-
		Ktr 3		Potence	-
		Ktr 4		-	Bocal et tuyau d' Aspiration
		Ktr 5		Table	-
		Ktr 6		Chariot de réanimation	
		Kcac1	CAC	Table	-
		Kcac2		potence	-
		Kcac3		Lits	-
		Knéo1	Néonatologie	Sol	-
		Knéo2		Chauffage	-
		Knéo3		Fenetre	-
		Knéo4		-	Couveuse
		Knéo5		-	Couveuse
		Knéo6		Lits	-
		Knéo7		Evier et robinet	-
		Kgf1	Gynécologie (Boufarik)	Mur	-
		Kgf2		-	Scope
		Kgf3		Porte et poigne de porte	-
		Kgf4			
		Kgf5		Table	-
		Kpne 1	Pneumologie	Lits	-
		Kpne 2		Lits	-
Enterobacter	***E.cloacae***	E.clo r1	Réanimation	Lits	-
		E.clo r2		Lits	-
		E.clo r3		-	Humidificateur
		E.clo r4		-	Seringue éléctrique
		E.clo r5		Potence	-
		E.clo r6		-	Tuyau d'aspiration
		E.clo r7		-	Tuyau d'aspiration
		E.clo r8		Table	-
		E.clo r9		-	Scope
		E.clo r10		-	Echographe
		E.clo n1	Neurochirurgie	Lits	-
		E.clo n2		Lits	-
		E.clo n3		-	Respirateur
		E.clo n4		-	Tuyau d'aspiration
		E.clo n5		-	Respirateur
		E.clo n6		Lits	-
		E.clo n7		Matelas	-

Suite du Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

		E.clo n8		Point d'eau	-
		E.clo n9		Table opératoire	-
		E.clo n10		-	Tuyau d'aspiration
		E.clo n11		-	Bocal d'aspiration
		E.clo n12		-	Respirateur
		E.clo n13		-	Respirateur
		E.clo n14		-	Bocal d'aspiration
		E.clo n15		-	Tuyau d'aspiration
		E.clo t1	Traumatologie	Lits	-
		E.clo t2		Table malade	-
		E.clo t3		-	Appareil d'anesthésie
		E.clo t4		Lits	-
		E.clo t5		-	Bocal et tuyau d'aspiration
		E.clo néo	Néonatologie	Lits	-
		E.clo pne	Pneumologie	Points d'eau	-
		E.clo gaf1	Gynécologie (AL Affroune)	Lits	-
		E.clo gaf2		Lits	-
		E.clo gaf3		Lits	-
		E.clo gaf4		Lits	-
		E.clo gaf5		Lits	-
		E.clo gaf6		-	Balance
		E.clo gaf7		-	Balance
		E.clo gaf8		-	Source d'O2
		E.clo gaf9		Chariot de médicament	-
		E.clo gaf10		Chariot de médicament	-
		E.clo gaf11		-	Balance
		E.clo gaf12		Table d'instrumment	-
		E.clo gaf13		-	Source d'O2
		E.clo gaf14		Rideaux	-
		E.clo gaf15		Rideaux	-
		E.clo gaf16		Potence	-
	Enterobacter aerogenes	E1	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		E2			
Serratia	***Serratia marcescens***	S.mrs r1	Réanimation	lits	-
		S.mrs r2		-	Masque
		S.mrs r3		Poignée de porte	-
		S.mrs r4		Chariot de réanimation	-
		Smrs tr	traumatologie	Laverie arrière bloc	-
		S.mrs n1	Neurochirurgie	-	Respirateur
		S.mrs n2		-	Aspirateur
		S.mrs néo	Néonatologie	fenêtres	-
	Serratia plymuthica	S.ply néo 1	Néonatologie	-	Barboteur
		S.ply néo 2			
	Serratia ficasia	S.fic néo	Gynécologie (Al Affroun)	Placard	-

Suite du Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

Escherichia	***Escherichia coli***	E.coli r1	Réanimation	Lits	-
		E.coli r2		-	Respirateur
		E.coli n1	Neurochirurgie		Tuyau d'aspiration
		E.coli n2			Tayau de réspiration
		E.coli tr1	Traumatologie	Lits	-
		E.coli tr2		Potence	-
		E.coli néo	Néonatologie	Table	-
		E.coli gyn	Gynécologie (Boufarik)	Table d'examination	-
		E.coli diab1	Diabétologie	Lits	-
		E.coli diab2		Lits	-
		E.coli diab3		Point d'eau	-
		E.coli diab4		Point d'eau	-
		E.coli diab5		Porte	-
		E.coli diab6		Point d'eau	-
		E.coli diab7		Lits	-
		E.coli pne1	Pneumologie	Lits	-
		E.coli pne2		Point d'eau	-
		E.coli pne3		Point d'eau	-
		E.coli pne4		Table	-
		E.coli pne5		Table	-
		E.coli pne6		Lits	-
	Escherichia vulneris	EV1	Gynécologie (Boufarik)	-	Masque réspiratoire
Autre genre	***Citrobacter frendii***	Citro1	Réanimation	Poignée de porte	-
		Citro2		Scope	-
		Citro3		Chariot de réanimation	-
		Citro4		fenêtres	-
		Citro5	Neurochirurgie	-	Tuyau d'aspiration
		Citro6		-	Tuyau de respiration
		Citro7	Traumatologie	Table malade	-
	Proteus mirabilis	Prot1	Réanimation	-	Laryngoscope
		Prot2		Lit	-
		Prot3	Gynécologie (AL Affroune)	-	Syalitique
		Prot4		Interrupteurs	-
		Prot5	Neurochirurgie	Table opératoire	-
		Prot6		Table opératoire	-
		Prot7		-	Bocal d'aspiration
		Prot8		-	Respirateur
		Prot9	Traumatologie	Chariot de réanimation	-
		Prot10		Table malade	-
		Prot11		Table malade	-
	Ewingella american	Ew1	Gynécologie (AL Affroune)	Table chauffante	
	Hafnia alvei	Hf1	Néonatologie	Evier,robinet	-

Suite du Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

		Hf2		Table d'examination	-
		Hf3		Table d'examination	-
		Hf4		Lits	-
		Hf5		Lits	-
		Hf6	Gynécologie (Boufarik)	Fenêtre	-
		Hf7		Porte	-
		Hf8		Lits	-
		Hf9		Lits	-
	Pantoea spp	Pnt1	Réanimation	Lits	-
		Pnt2		Chariot de réanimation	-
		Pnt3		Chariot de réanimation	-
		Pnt4		Potence	-
		Pnt5	Traumatologie	Table malade	-
		Pnt6		Table malade	-
		Pnt7	CAC	Point d'eau	-
		Pnt8		Support	-
		Pnt9	Néonatologie	Evier, robinet	-
	Cedecea lapagei	Ced1	Gynécologie (AL Affroune)	Table malade	-
BGNnf	***Acinetobacter baumanii***	Aba1	Réanimation	Lits	-
		Aba2		-	Scope
		Aba3		Potence	-
		Aba4		Chariot de réanimation	-
		Aba5		Lits	-
		Aba6		Lits	-
		Aba7		Lits	-
		Aba8		Lits	-
		Aba9		Table	-
		Aba10		Lits	-
		Aba11		Lits	-
		Aba12		Lits	-
		Aba13		Lits	-
		Aba14		Lits	-
		Aba15		Potence	-
		Aba16		Lits	-
		Aba17		Potence	-
		Aba18		Porte	-
		Aba19		Lits	-
		Aba20		Lits	-
		Aba21		Lits	-
		Aba22		Lits	-
		Aba23		Potence	-
		Aba24		Potence	-
		Aba25		Lits	-
		Aba26	Traumatologie	Lits	-
		Aba27		Lits	-
		Aba28		Lits	-
		Aba29		Potence	-
		Aba30		Table	-
		Aba31		Table malade	-
		Aba32		Lits	-
		Aba33		Table	-
		Aba34		Table malade	-

Suite du Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

		Aba35		Chariot de réanimation	-
		Aba36	Néonatologie	Lits	-
		Aba37	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		Aba38		Lits	-
		Aba39		Lits	-
		Aba40	Gynécologie (Affroune)	Potence	-
		Aba41		Chariot de MDCT	-
BGNnf	***Pseudomonas aeruginosa***	Pae1	Réanimation	Lits	-
		Pae2		Point d'eau	-
		Pae3		Lits	Source d'O2
		Pae4		Evier, robinet	barboteur
		Pae5		Potence	-
		Pae6		Chariot de réanimation	-
		Pae7		-	Bocal et tuyau d'aspiration
		Pae8	Neurochirurgie	-	boites d'instruments
		Pae9		Chariot de réanimation	-
		Pae10		-	Respirateur
		Pae11		-	Respirateur
		Pae12	Traumatologie	Lits	-
		Pae13		Potence	-
		Pae14		-	Bocal et tuyau d'aspiration
		Pae15		-	Bocal et tuyau d'aspiration
		Pae16	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		Pae17		Evier	-
		Pae18		Evier	-
		Pae19		Lits	-
		Pae20		Evier	-
		Pae21	Néonatologie	Lits	-
		Pae22		Lits	-
		Pae23		Fenêtres	-
		Pae24	Pneumologie	Point d'eau	-
		Pae25		Point d'eau	-
		Pae26		Point d'eau	-
		Pae27		Table	-
		Pae28	Gynécologie (AL Affroune)	-	Source d'O2
		Pae29		-	Source d'O2
		Pae30		fenêtres	-
		Pae31		Chariot de MDCT	-
		Pae32		Table d'instrument	-
		Pae33	Diabétologie	Point d'eau	-
		Pae34		Point d'eau	-
		Pae35		Lit	-
	Burkholderia cepacia	B.cep1	Gynécologie (AL Affroune)	Mur	-
		B.cep2	Réanimation	fenêtres	-
		B.cep3		Potence	-
		B.cep4	Néonatologie	Lits	-

Suite du Tableau 3.3 : Répartition des BGN isolées des différents sites

		B.cep5		Lits	-
		B.cep6	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		B.cep7		Lits	-
	Stenotrophomonas maltophilia	S.mltph1	Réanimation	Table malade	-
		S.mltph2		-	Scope
		S.mltph3	Néonatologie	Evier,robinet	-
		S.mltph4		Lits	-
		S.mltph5		Lits	-
		S.mltph6	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		S.mltph7		Lits	-
Autre BGNnf	***Flavimonas horyzihabitans***	F.hor1	Néonatologie	Lits	-
		F.hor2	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		F.hor3		Lits	-
		F.hor4		Portes	-
		F.hor5		-	Appareil respiratoire
		F.hor6		Potence	-
		F.hor7		Lits	-
		F.hor8		Lits	-
		F.hor9		Lits	-
	Aeromonas salmonicida	A.sal1	Gynécologie (Boufarik)	Lits	-
		A.sal2		Lits	-
		A.sal3		Fenetre	-
	Chryseomonas luteola	C.lut1	Néonatologie	Rideaux	-
		C.lut2	Gynécologie (Boufarik)	Sol	-
		C.lut3	Gynécologie (Boufarik)	Sol	-
	Pasteurella muktocida1	P.mukt	Gynécologie (AL Affroune)	Rideaux	-
	Raoutella ornithiolytica	R.orni	Gynécologie (AL Affroune)	fenêtres	-

Les bactéries Gram négatif non fermentaires ont été identifiées à un taux de 30,61% (soit 90/293), comme illustré dans la figure 3.5. Cela indique une prédominance de deux espèces bactériennes particulièrement impliquées dans la survenue des infections nosocomiales, à savoir *Acinetobacter baumannii* (41/90, soit 45,55%) et *Pseudomonas aeruginosa* (35/90, soit 38,88%).

Par ailleurs, d'autres bactéries à Gram négatif non fermentaires, fréquemment présentes dans l'environnement hospitalier, ont été isolées, notamment *Burkholderia cepacia et Stenotrophomonas maltophilia* (07/90, soit 7,77%). Parmi les autres bactéries à Gram négatif, 17/294 (5,78%) ont été identifiées, comprenant 09 souches de *Flavimonas horyzihabitans*, trois souches moins fréquentes de *Aeromonas salmonicida et Chryseomonas luteola,* ainsi qu'une souche occasionnelle de *Pasteurella multocida et Raoultella ornithinolytica*.

Tableau 3.4 : Répartition des différents BGN isolées

Groupe	Genre	Espèces	Effectif de l'espèce	% de l'espèce	Effectif du/ des genre (s)	% du genre	Effectif du groupe	% du groupe
Enterobacteriaceae	*Klebsiella*	*Klebsiella oxytoca*	3	1,02%	66	22,44 %	187	63,60 %
		Klebsiella terrigena	4	1,36%				
		Klebsiella pneumoniae	59	20,06%				
	Enterobacter	*Enterobacter cloacae*	48	16,32%	50	26,73%		
		Enterobacter aerogenes	02	0,68%				
	Serratia	*Serratia marcescens*	08	2,72 %	11	3,74 %		
		Serratia plymuthica	02	0,68%				
		Serratia ficasia	01	0,34%				
	Escherichia	*Escherichia coli*	21	7,14 %	22	7,48 %		
		Escherichia vulneris	01	0,34 %				
	Autres genre	*Citrobacter freundii*	07	2,38%	38	12,92%		
		Proteus mirabilis	11	3,74%				
		Ewingella american	01	0,34%				
		Hafnia alvei	09	3,06%				
		Pantoea spp	09	3,06%				
		Cedecea lapagei	01	0,34%				
BGn_{nF}		*P.aeruginosa*	35	11,90%	90	30,61%	90	30,61 %
		A.baumanii	41	13,94%				
		B. cepacia	07	2,38%				
		S.maltophilia	07	2,38%				
Autres BGN		*F.horyzihabitans*	09	3,06%	17	5,78%	17	5,78%
		A.salmonicida	03	1,02%				
		C.luteola	03	1,02%				
		P.muktocida1	01	0,34%				
		R. ornithiolytica	01	0,34%				
Total		**25 espèces**	**294**	**100%**	**294**	**100%**	**294**	**100%**

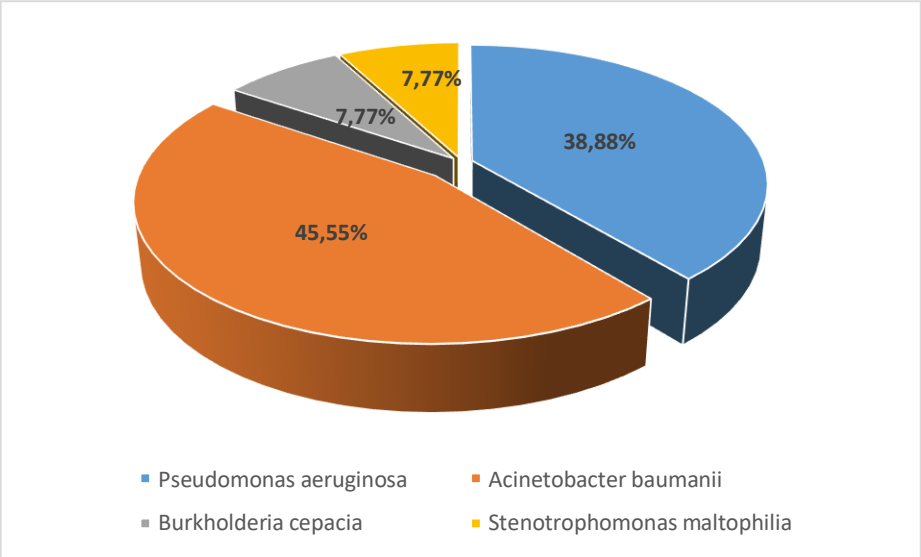

Figure 3.5 : Fréquence des souches Gram négative non fermentaires.

3.3.2. Répartition des bactéries Gram négatifs par services

Le tableau 3.5 rapporte la fréquence d'isolement des bactéries Gram- en fonction des services étudiés. Les entérobactéries sont principalement isolées des surfaces à contact élevé, que ce soit par les patients ou les soignants. On observe une répartition similaire pour les BGNnf *Acinetobacter baumannii*, avec une fréquence d'isolement élevée dans les services de traumatologie et de réanimation. En ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa*, ces souches sont isolées principalement des environnements humides tels que les points d'eau, les bocaux, les tuyaux d'aspiration et les respirateurs, avec une fréquence d'isolement variable selon les services étudiés.

Cette distribution révèle une fréquence élevée de bactéries Gram négatives dans les différents services, particulièrement marquée dans les zones critiques à risque sévère où les patients immunodéprimés sont hospitalisés. La figure 3.6 montre le degré de similarité de la distribution des espèces entre les différents services étudiés. Nous remarquons l'existence de deux groupes le premier constitué par les services de Traumatologie, Réanimation Neurochirurgie et Gynécologie et le second groupe représenté par le reste des services.

Tableau 3.5: Répartition des souches Gram- isolées au niveau des différents services dans les différents établissements

Etablissement	Services	Entérobactéries % (n)	BGNnf %		
			A.ba **% (n)**	***P.ae*** **% (n)**	**Autres BGN % (n)**
CHU Frantz Fanon	**Réanimation**	53,84 % (n=42)	32,05 (n=25)	8,97 % (n=07)	5,12 % (n=04)
	Neurochirurgie	92,15% (n=47)	0	7,84% (n=4)	00
	Traumatologie	58,82% (n=20)	29,41% (n=10)	11,76% (n=4)	00
	CAC hématologie	100% (n=05)	0	00	00
EPH Boufarik	**Gynécologie I**	40,54 % (n=15)	8,10 % (n=3)	13,51 % (n=05)	37,83 % (n=14)
	Néonatologie	61,76% (n=21)	2,94% (n=1)	8,82% (n=03)	26,47% (n=9)
EPH Brahim Tirichine	**Diabétologie**	(n=6) 66,66%	0	33,33% (n=03)	00
	Pneumologie	71,42% (n=10)	0	28,57% (n=04)	00
EPH AL Affroun	**Gynécologie II**	65,62 % (n=21)	6,25 % (n=2)	15,62% (n=05)	12,5 % (n=04)

A.ba : *A.baumannii* ***; P.ae :*** *P.aeruginosa*

Le dendrogramme de la Figure 3.7 a permis d'illustrer les différentes espèces isolées qui se regroupent en sept clusters en fonction de leur similarité dans les différents services hospitaliers (*A.baumannii , P.aeruginosa, K.pneumoniae* et *E.cloacae*).

Les souches de *Klebseilla* fortement représentés sont distribués dans divers clusters a cause de sa répartition dans les divers services étudiés. Les souches de *Pseudomonas et Acinetobacter* sont distribués sur des branches isolées, ces espèces sont isolées dans certain services d'une fréquence plus importante que d'autre tel que Réanimation, traumatologie et neurochirurgie.

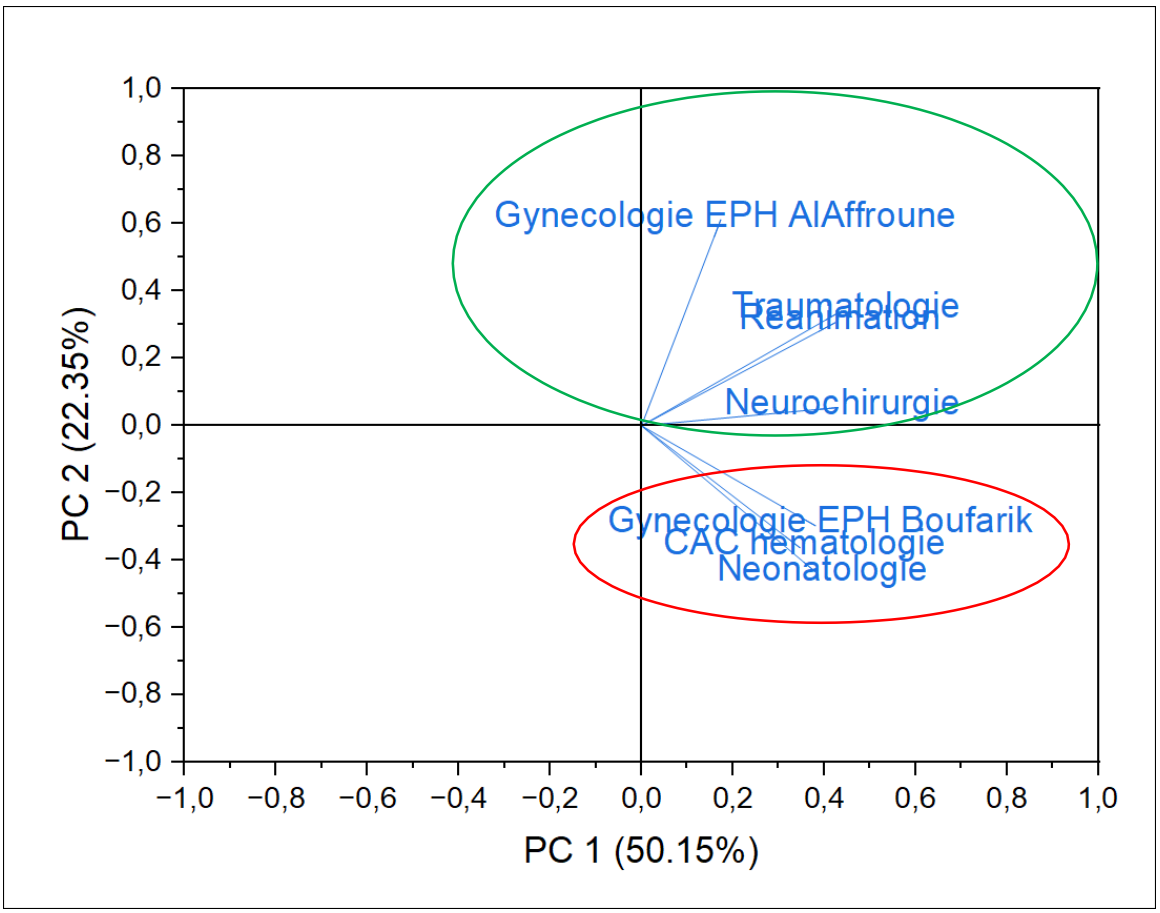

Figure 3.6 : Degré de similarité des espèces en fonction des services

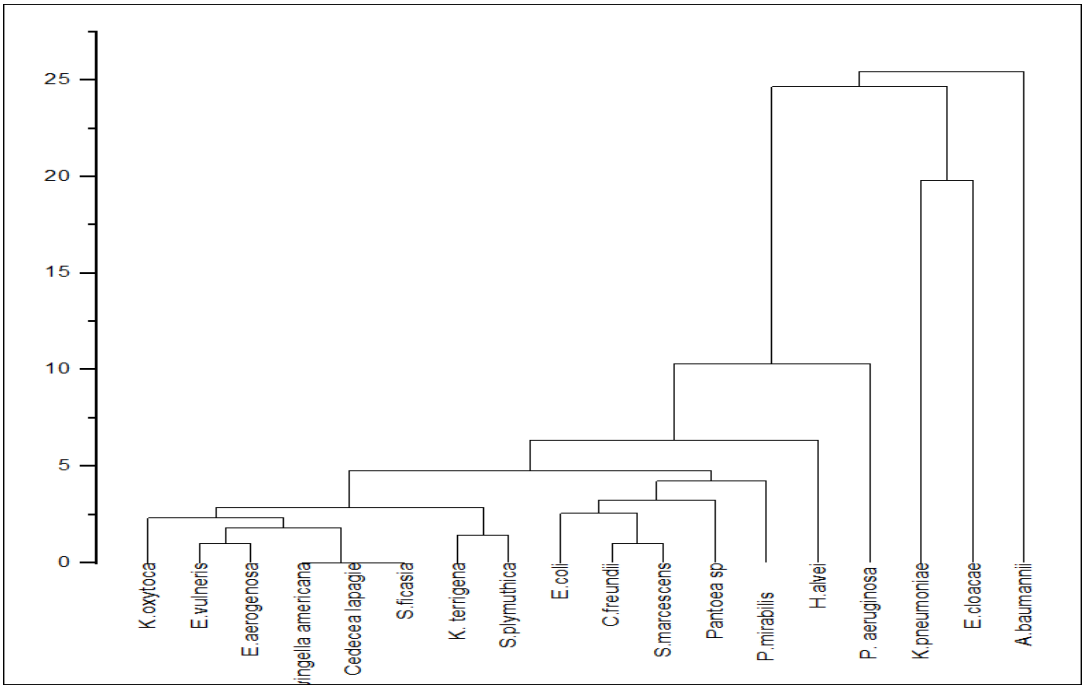

Figure 3.7 : Dendrogramme de regroupement des différentes espèces isolées

3.4. Profil de résistance des bactéries Gram négatives

3.4.1. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées

D'après le tableau 1 (Appendice G), les diverses espèces d'entérobactéries isolées révèlent une résistance élevée aux antibiotiques testés. Parmi les 148 souches résistantes, 100 appartiennent aux entérobactéries, réparties entre différentes espèces telles que *K. pneumoniae, K. oxytoca, E. cloacae, E. coli, P. mirabilis et Pantoae ssp.* L'indice de résistance aux antibiotiques (IMR) est une mesure de l'étendue de la résistance aux ATBs pour les isolats du groupe étudié. 83,33% (n=85) des bactéries étaient considérées comme des souches multirésistantes.

Les BGNnf identifiés, 39 souches de *A. baumannii* parmi les 41 isolées, présentent un profil de résistance. De même, parmi les 35 souches de *P. aeruginosa* examinées, 7 présentent une résistance aux antibiotiques testés, comme le détaille le tableau 2 (Appendice G). Le calcul de l'indice de résistance aux antibiotiques (IMR) a montré que 60,52 % (n=46) des BGNnf étaient considérées comme des souches multirésistantes .

Les variations des diamètres d'inhibition dans l'antibiogramme fournissent une indication qualitative du profil de résistance des souches isolées testées. En examinant les profils de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries et des BGNnF isolées au cours de notre étude, nous avons constaté des niveaux de résistance variables. Le tableau 3.6 expose le profil de résistance des groupes isolés, indiquant que 54,54 % (102 sur 187) des entérobactéries et 60,52% (46/76) des BGNnF sont répertoriées comme résistantes.

Tableau 3.6 : Profil de résistance aux antibiotiques des BGN isolées

Familles d'antibiotiques	Bactéries Gram négatives	
	Entérobactéries n (%)	BGNnf n (%)
Béta-lactamines	102 (54,54 %)	46 (60,52 %)
Carbapénèmes	26 (13,90 %)	46 (60,52 %)
Aminosides	59 (31,55 %)	36 (47,36 %)
Quinolones	59 (31,55 %)	40 (52,63 %)
Sulfamides et associé	59 (31,55 %)	33 (43,42 %)
Polymexines	4 (3,92%)	0

Les résultats ont révélé une résistance élevée des entérobactéries aux bêtalactamines, atteignant 54,54 %. Il s'agit de la famille d'antibiotiques pour laquelle ces souches manifestent une résistance totale, tandis que pour les autres familles, on observe une variation de la résistance. Environ 13,90 % des entérobactéries sont identifiées comme sécrétrices de carbapénémases.

En revanche, pour les BGNnf, un taux encore plus élevé est observé, avec 60,52 % de résistance aux carbapénèmes, comme illustré dans la figure 3.8.

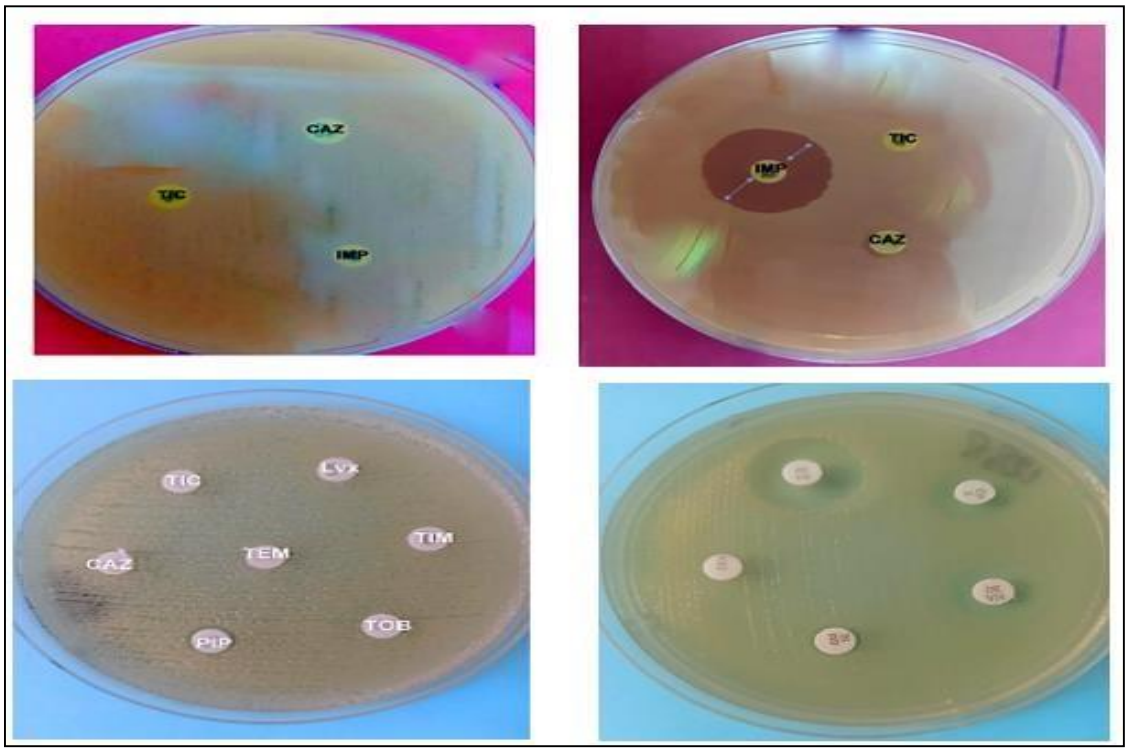

Figure 3.8 : Profil d'antibiogramme de deux souches isolées de *Acinetobacter baumannii*.

Amoxicilline/acide clavulanique (AMC), Céfotaxime (CTX), Céfotaxine (FOX), ceftazidime (CAZ) , Ciprofloxacine (CIP) , Triméthoprime/Sulphaméthoxazole (SXT), Céfazoline (CF) (, Méropénème (MER), Imipénème (IMP), Ertapenem (ERT), Gentamicine (GN), Amikacine (AK), acide nalidixique NA, Lévofloxacine (LEV), Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Tobramycine(TM), Pipéracilline (PIP).

Concernant les polymyxines, le taux de 3,92% représente la résistance naturelle de *Proteus mirabilis*. En effet, à l'exception de *Proteus mirabilis*, toutes les BGN testées se révèlent sensibles à la colistine.

3.4.2. Concentration Minimale Inhibitrice

Les CMIs ont été déterminées par la méthode de référence de microdilution, à la fois en milieu liquide et en milieu gélifié, comme illustré dans la figure 3.9.

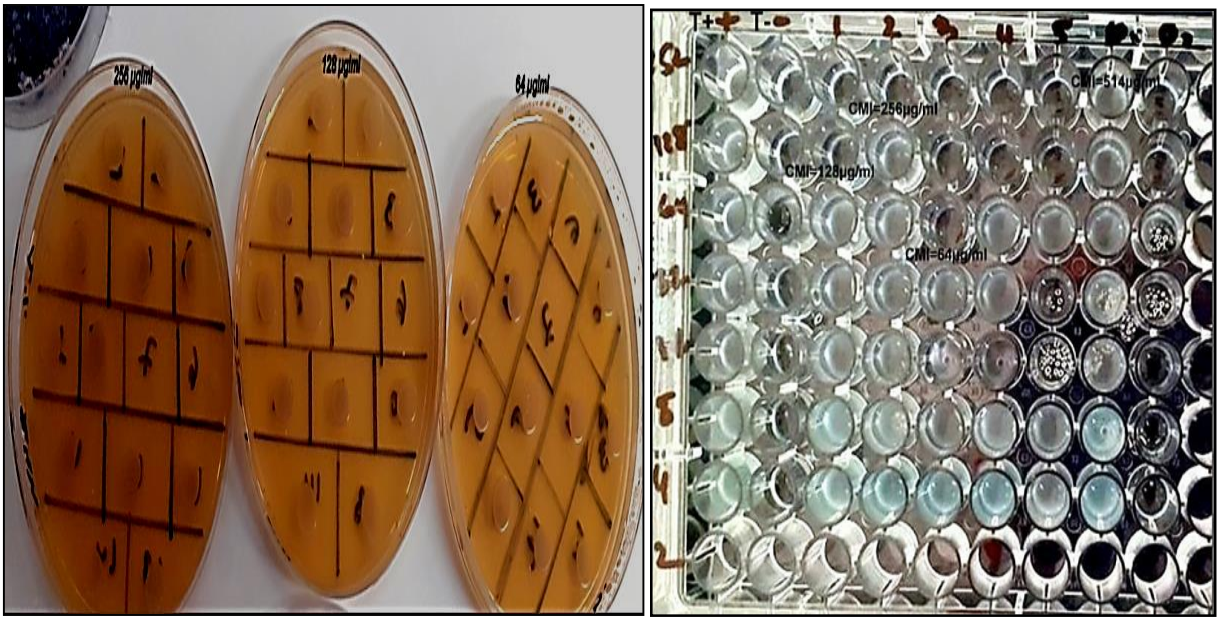

Figure 3.9 : CMI d'Imipenème en milieu liquide et solide.

Le tableau 3.7 représente la fréquence des CMIs (µg/ml) chez les entérobactéries testées pour les différents antibiotiques : Colistine (CS), Céfotaxime (CTX), Ciprofloxacine (CIP), Ertapenème (ERT), Gentamicine (GEN), Imipenème (IMP) et Meropenème (MER)

Tableau 3.7: Fréquence des entérobactéries en fonction des concentrations minimales inhibitrices (µg/ml).

ATB / CMI(µg/ml)	CS	CTX	CIP	ERT	GEN	IMP	MER
0,125	69	0	13	33	12	28	34
0,25	21	0	0	19	0	23	33
1	8	0	6	23	7	25	9
2	0	0	0	0	0	0	0
4	4	0	0	0	0	0	0
8	0	7	0	1	0	0	0
16	0	5	0	17	0	5	18
32	0	4	16	4	0	18	0
64	0	23	14	5	0	3	6
128	0	26	7	0	36	0	2
256	0	37	46	0	47	0	0
512	0	0	0	0	0	0	0
CMI- MIN	0,125	8	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
CMI-MAX	4	256	256	64	256	64	128
Ecart-type	20,03	12,78	13,33	11,45	16,04	11,39	12,87

La majorité des souches présente une résistance aux antibiotiques comme la céfotaxime, la ciprofloxacine et la gentamicine, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) atteignant jusqu'à 256 µg/ml. En revanche, la résistance aux

carbapénèmes est moins fréquente, les concentrations de 16 µg/ml et 32 µg/ml sont les deux concentrations les plus fréquentes.

En ce qui concerne les polymyxines, le tableau 3.8 indique un taux de 3,84% avec une concentration de 4 µg/ml. Cette résistance est liée à la nature intrinsèque des souches de *Proteus mirabilis.*

*L*es autres souches testées sont sensibles à la colistine (figure 3.10)

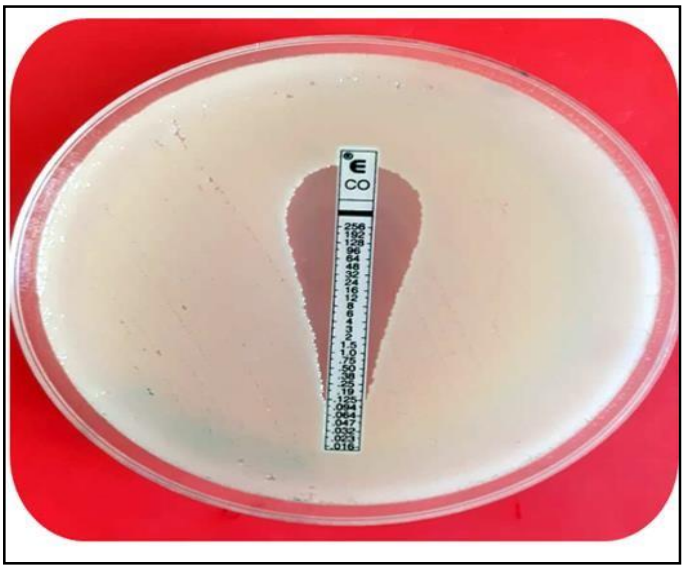

Figure 3.10 : CMI E-test Colistine d'une souche de *K. pneumoniae* (CMI=0,125 µg/ml).

Le tableau 3.8 représente la fréquence des CMIs (µg/ml) chez les souches BGNnf testées pour les différents antibiotiques : Colistine (CS), Céftazidime (CAZ), Ciprofloxacine (CIP), Gentamicine (GEN), Imipenème (IMP) et Meropenème (MER).

Tableau 3.8 : Fréquence des BGNnf en fonction des concentrations minimales inhibitrices (µg/ml).

ATB CMI µg/ml	CAZ	CS	CIP	GEN	IMP	MER
0,125	0	39	2	2	0	0
0,25	0	0	0	0	0	0
1	0	7	1	3	0	0
2	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
16	1	0	0	0	0	0
32	2	0	0	1	0	0
64	0	0	17	0	0	0
128	0	0	14	0	33	33

256	25	0	12	25	6	6
512	18	0	0	15	7	7
CMI Min	16	0,125	0,125	0,125	128	128
CMI Max	512	1	256	512	512	512
Ecart-type	142,91	0,32	79,16	154,53	147,25	153,01

Les souches de BGNnf isolées présentent des concentrations minimales inhibitrices particulièrement élevées pour les divers antibiotiques testés, avec des concentrations variant de 32 µg/ml à 512 µg/ml, comme illustré dans la figure 3.11.

En comparaison avec les entérobactéries, toutes les BGNnf montrent une résistance aux carbapénèmes, avec des concentrations minimales de 128 µg/ml et 512 µg/ml, toutes deux étant élevées.

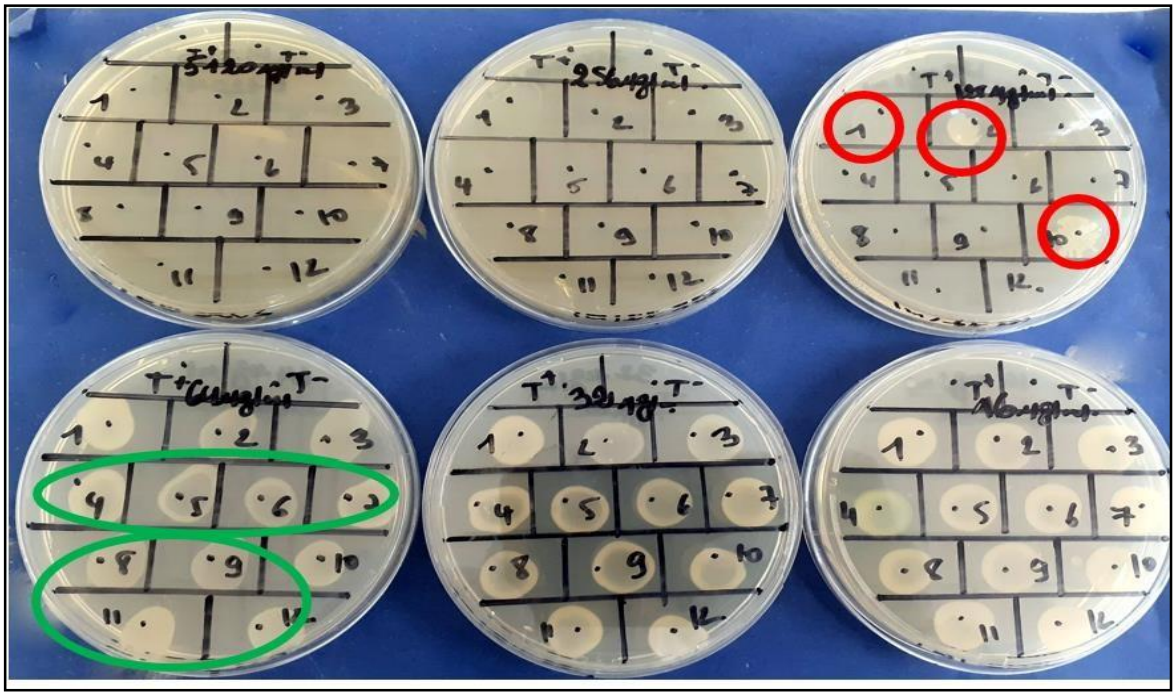

Figure 3.11 : CMI Céftazidime sur milieu solide chez des souches BGNnf.

Les résultats des CMIs pour la colistine révèlent que toutes les BGNnf testées sont sensibles aux polymyxines (Figure 3.12).

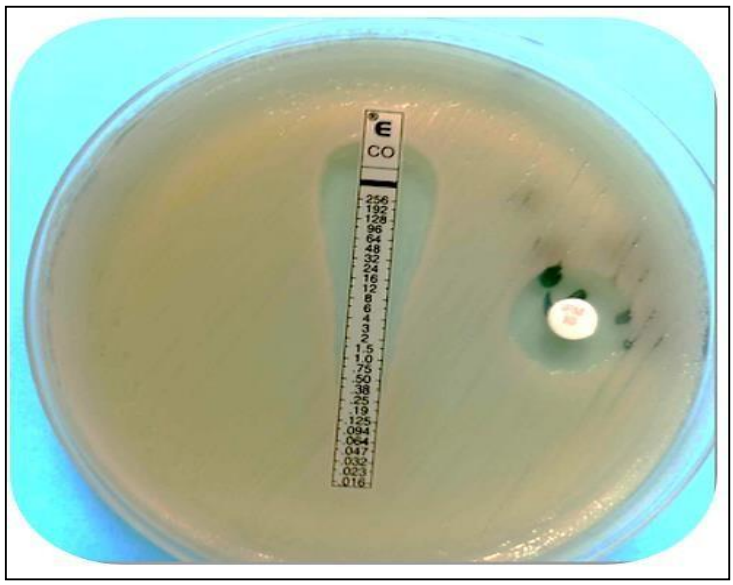

Figure 3.12 : CMI E-test Colistine d'une souche de *A. baumannii* résistante aux carbapénèmes (CMI=0,5).

3.4.3. Profil de résistance des BGN isolées

L'utilisation de l'indice de multi-résistance, calculé à partir des données fournies par les tableaux 3.6 et 3.7, a permis de distinguer quatre profils de résistance distincts.

Un indice supérieur à 0,5 est requis pour les profils I, II et III (Tableaux 3.9 et 3.10). Les souches isolées qui présentent ces trois profils sont catégorisées comme étant multi-résistantes, comme le montre la figure 3.13.

Tableau 3.9 : Profils de résistance des entérobactéries

	Profil de résistance	IMR	n (%)
I	AMC AK CF CIP CTX FOX GN IMP MER ERT NA SXT	0,9	21 (20,58 %)
II	AMC AK CF CIP CTX FOX GN NA SXT	0,7	60 (58,82%)
III	AMC AK CF CIP CTX CS FOX GN IMP MER NA SXT	1	4 (3,92%)
IV	AMC CF CTX FOX	0,3	17(16,66%)

Tableau 3.10 : Profils de résistance des BGNnf

	Profil de résistance	IMR	n (%)
I	AMK CAZ GEN IMP LVX MEM PIP SXT TCC TIC TOB	0,9	30 (65,20%)
II	CAZ GEN LVX TOB IMP MEM PIP SXT TCC TIC	0,6	10 (21,70%)
III	AMK CAZ GEN TOB IMP MEM PIP SXT TCC TIC	0,6	6 (13%)

Parmi les Bactéries Gram négatives non fermentaires (BGNnf), le "profil I" est le plus fréquent, représentant 30 cas (65,20%). En revanche, pour les entérobactéries, c'est le "profil II" qui prédomine avec 60 (58,82%). Il est important de noter qu'aucune souche de ce groupe n'est sécrétrice de carbapénèmases.

De plus, parmi les entérobactéries qui présentent le profil de résistance "AMC, CF, CTX, FOX", soit 17 sur 102, ces bactéries ne sont pas considérées comme multirésistantes, car l'indice de profil de résistance est inférieur à 0,5 (voir tableau 3.9).

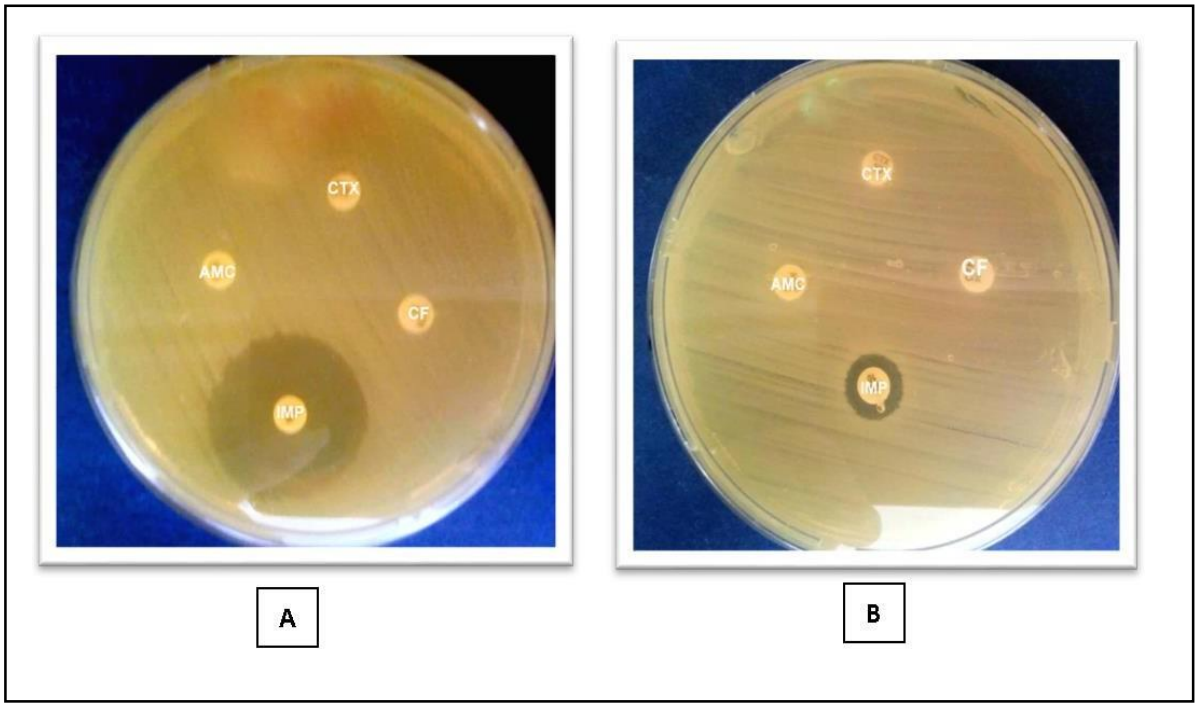

Figure 3.13 : Profil de résistance chez deux souches d'*E. cloacae*

A: Profil I; B: Profil II

On note une répartition hétérogène des profils de multirésistance parmi les entérobactéries isolées. Les profils I et II sont prédominants chez les souches de *K.*

pneumoniae, E. cloacae, E. coli, et Pantoea, avec une nette prévalence du profil "II". En revanche, le profil III est considéré comme un profil de résistance distinct et est particulièrement observé chez les souches de *P. mirabilis*, en raison de l'interférence de sa résistance naturelle à la colistine (voir tableau 3.11).

Tableau3.11 : Répartition des entérobactéries selon les profils de multi-résistance.

Entérobactéries	Profil I n%	Profil II n%	Profil III n%	Profil IV	Total des souches résistantes
K.pneumoniae	13 12,74%	18 19,60%	0	7 4,90%	38 37,25%
E.cloacae	7 6,86%	36 35,29%	0%	1 0,98%	44 43,13%
E.coli	2 0,98%	5 2,94%	0%	3 5,88%	10 9,80%
P.mirabilis	0%	0%	4 3,92%	0	4 3,92%
Pantoea.ssp	0%	1 0,98%	0%	0	1
K.oxytoca	0	0	0	1 0,98%	1 0,98%
K.terrigena	0	0	0	4 3,92%	4 3,92%
Total	21 20,58 %	60 58,82%	4 3,92%	17 16,66	102 100%

Présentant un indice dépassant 0,5, 39/41 des souches de *A. baumannii* sont considérées comme multirésistantes, tandis que seulement 7/35 des souches de *P. aeruginosa* le sont (Tableau 3.12).

En comparaison avec les entérobactéries, la sécrétion de carbapénèmases apparait comme le mécanisme prédominant chez les bactéries Gram négatives non fermentaires multirésistantes. Les fréquences des CMIs des carbapénèmes testés, comme citée précédemment, atteignent des valeurs élevées, allant jusqu'à 128 µg/ml, 256 µg/ml, voire dépassant 512 µg/ml, comme illustré dans la Figure 3.14

Figure 3.14 : CMI des carbapénèmes sur milieu solide des souches BGNnf.

Les souches exprimant les profils « II » et « III » présentent une sensibilité à l'Amikacine et au Levofloxacine respectivement. Ces deux profils sont exclusivement observés chez *A. baumannii*, comme indiqué dans le Tableau 3.12.

Tableau 3.12 : Répartition des BGNnf selon les profils de résistance.

BGNnf	Profil I n (%)	Profil II n (%)	Profil III n (%)	Total des souches résistantes
A.baumannii	23 (50%)	10 (21,73%)	6 (13,04%)	39 (84,78%)
P.aeruginosa	7 (15,21%)	0	0	7 (15,21%)
Total	30 (65,21%)	10 (21,73%)	6 (13,04%)	46 (100%)

La figure 3.15 présente la distribution des souches résistantes dans les divers services. L'intensité de la coloration dans chaque cellule reflète le niveau normalisé de présence de chaque espèce dans chaque service, les teintes plus froides (bleues) représentent des niveaux plus faibles et les teintes les plus chaudes (rouges) indiquent des fréquences plus élevées. Cette analyse a permis de mettre en évidence la répartition des différentes espèces résistantes avec une fréquence significativement élevée observée dans les services de réanimation, de neurochirurgie, de traumatologie et de gynécologie de l'EPH Al Affroune.

Le dendrogramme présenté dans la figure 3.16 simplifie la compréhension des relations et des similitudes entre les espèces, en se basant sur leurs fréquences d'isolement au niveau des différents services. Les différentes espèces résistantes se regroupent en clusters en fonction de leur similarité dans les différents services hospitaliers. Les groupements d'espèces étroitement liées partagent des profils de présence plus homogènes à travers les services, suggérant l'existence de caractéristiques de résistances communes. En analysant les branches du dendrogramme, on peut constater que les souches de *K. pneumoniae* et *E. cloacae* ont un profil de résistance très proches, ainsi que pour les espèces *C. freundii,S. marcescens, Pantoea sp., H. alvei, S. plymuthica, Enterobacter aerogenes, Ewingella americana, Cedecea lapagie et S. ficasia* qui forment un groupe homogène présentant un profil de sensibilité similaire.

Les *A.baumannii* représentent une branche séparé car elles présentent un profil de résistance spécifique surtout aux niveau des services de réanimation et traumatologie.

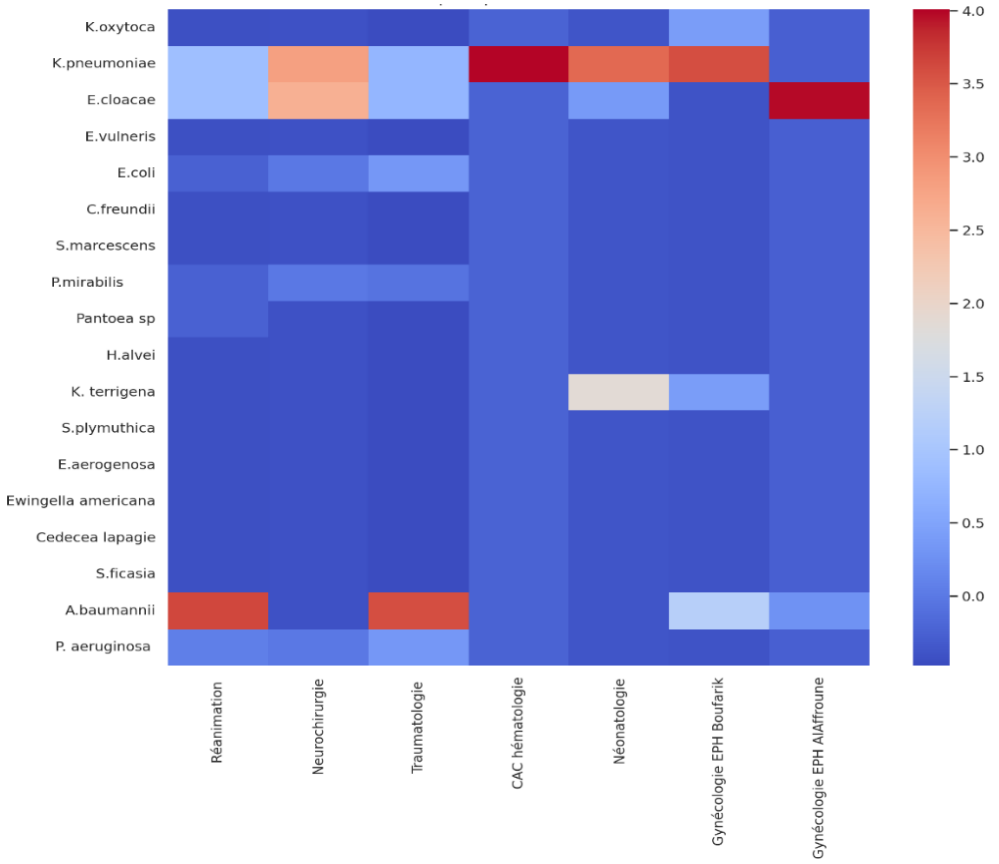

Figure 3.15 : Répartition des souches résistante selon les services étudiés

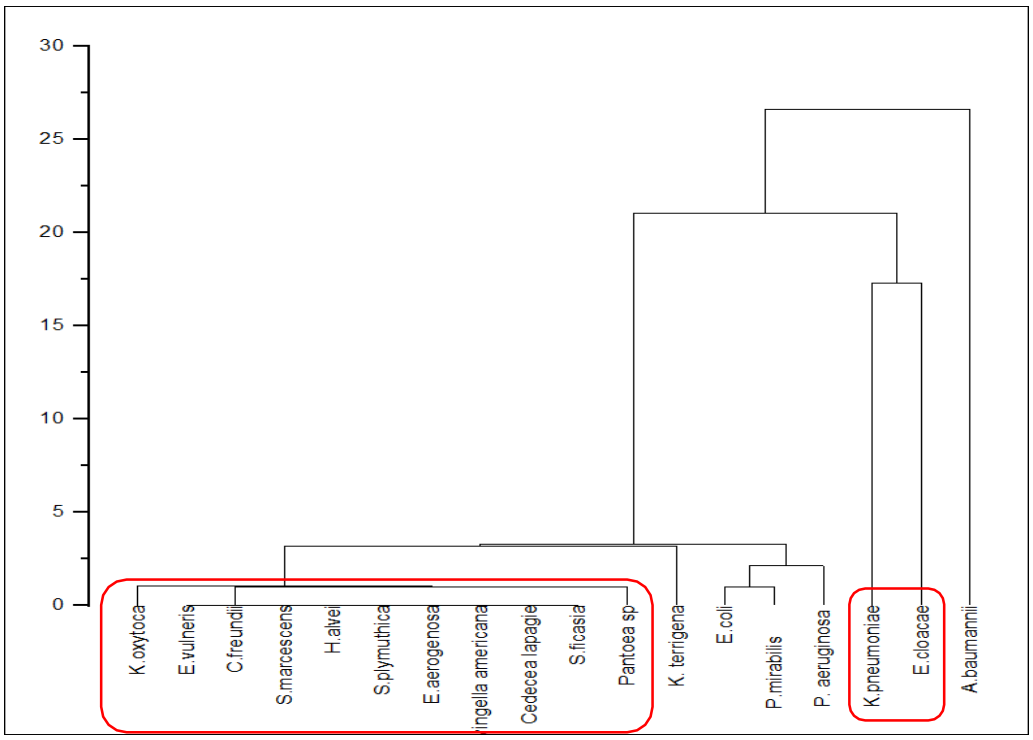

Figure3.16 : Distribution des Espèces Résistantes à travers les Services Hospitaliers : « Analyse de Similarité »

3.5. Phénotype de résistance des bactéries Gram négatives isolées

Les différents tests complémentaires nous ont permis de cerner les différents mécanismes de résistance exprimés par les BGN isolées.

3.5.1. Bactéries Gram négative sécrétrices de béta lactamase à spectre élargie

Ce mécanisme de résistance a été identifié chez 104/148 (70,27%) souches multirésistantes, confirmé par des tests de synergie, où des images de synergie en forme de « bouchon de champagne » peuvent apparaître entre les disques d'une céphalosporine de 3ème génération ou d'un monobactam et celui de l'Amoxicilline-acide clavulanique (AMC) pour les *Enterobacteriaceae* ou la Ticarcilline-acide clavulanique (TCC) pour les BGN non fermentants.

Ainsi, une positivité au double disque est caractérisée par le diamètre d'inhibition autour du disque de céphalosporine de 3ème génération appliqué après la diffusion du disque de l'Amoxicilline + acide clavulanique, qui est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de céphalosporine de 3ème génération (voir figure 3.17).

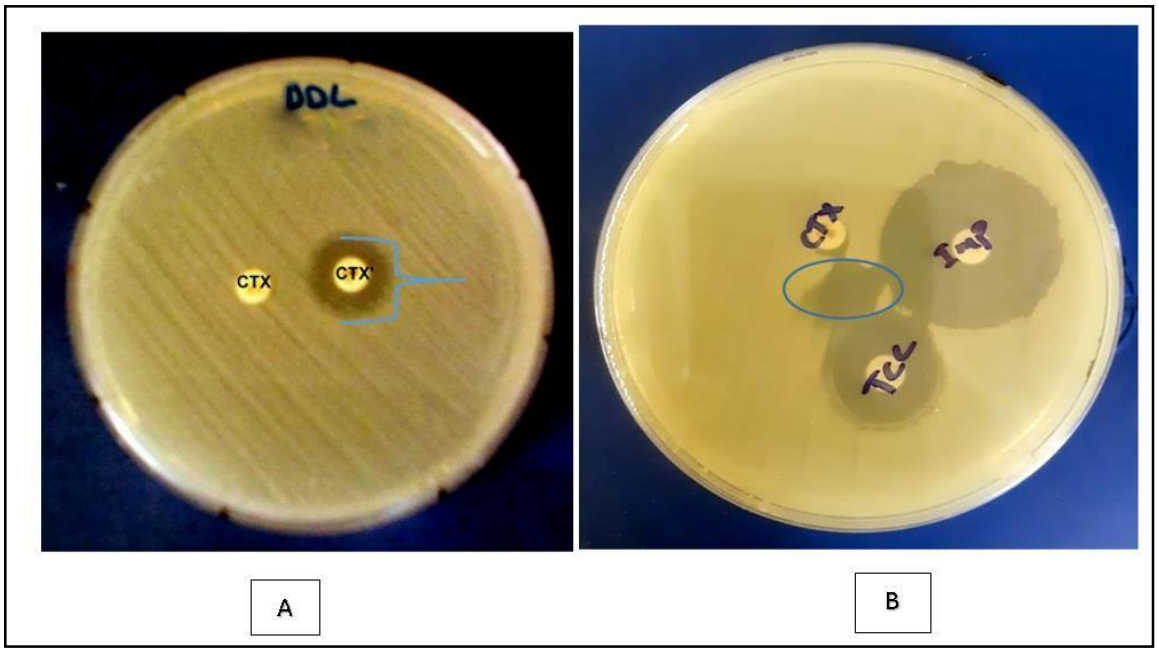

Figure 3.17 : *E. cloacae* sécrétrice de béta lactamase à spectre élargie

A : test de double disque positif. B : Image de synergie entre les disques de CTX et TCC (bouchon de champagne).

La plupart des entérobactéries multirésistantes (n=84, 96,47%,) sont des BLSE. En revanche, pour les BGNnf, ce mécanisme n'est observé que chez 26,31% de *A. baumannii* (soit 20 sur 76).

P. aeruginosa ne sécrète pas de béta-lactamases à spectre élargi.

La figure 3.18 représente la répartition des bactéries Gram négatives sécrétant des béta-lactamases à spectre élargi dans différents services hospitaliers, offrant ainsi une visualisation de la présence de ces espèces au sein de l'environnement hospitalier. Les variations de couleur sur cette carte reflètent la densité relative de ces bactéries dans chaque service, mettant en évidence les services de réanimation, de neurochirurgie et de traumatologie comme des zones où ces souches sont particulièrement présentes et isolées (hotspots de résistance ou points chauds de résistance).

Une analyse du test du khi-deux a été réalisée pour évaluer l'indépendance entre les espèces bactériennes et les services hospitaliers. La p-value associée à ce test s'est avérée extrêmement faible, inférieure à 0,0001, ce qui confirme de manière significative l'association entre les espèces bactériennes (BLSE) et les services hospitaliers examinés.

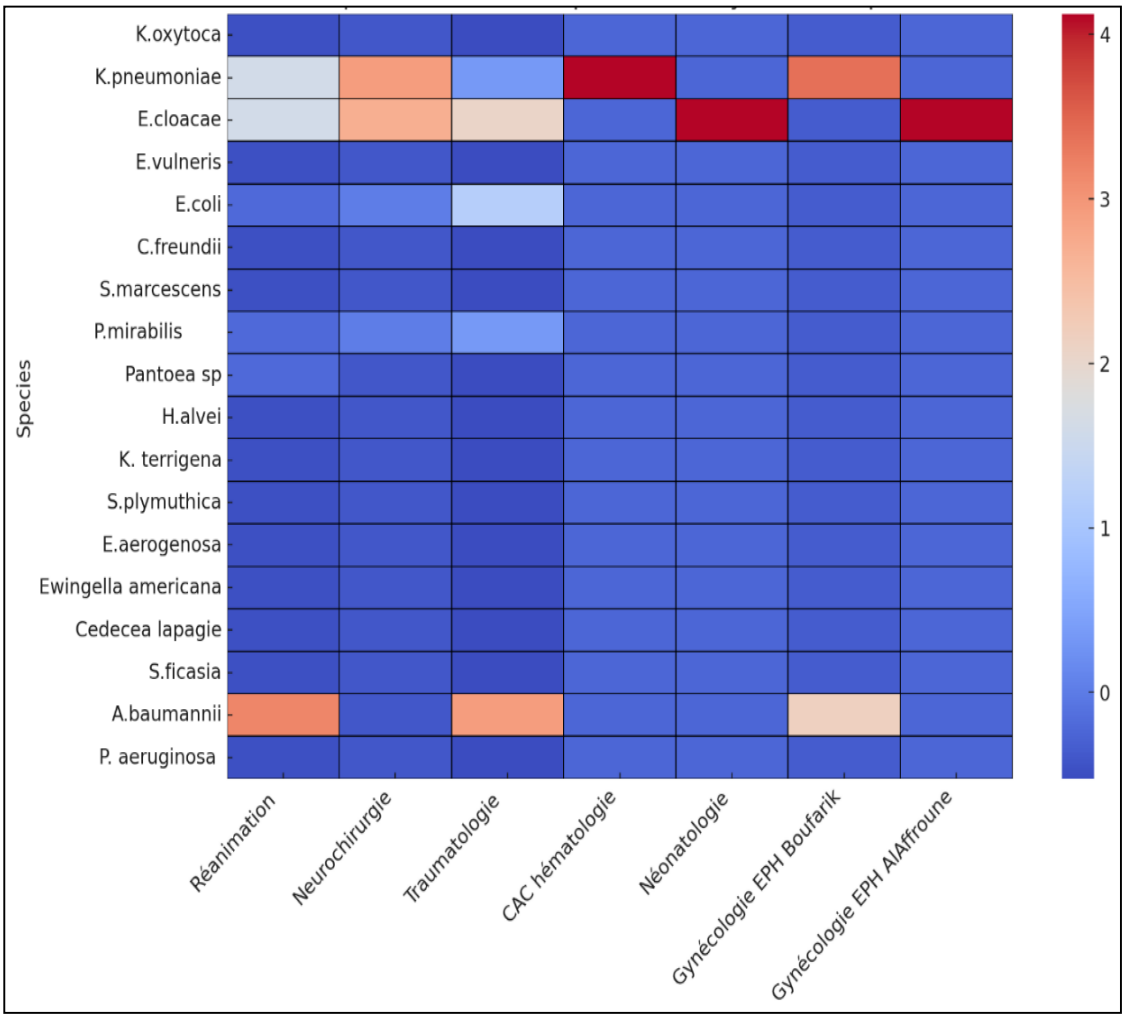

Figure 3.18 : Cartographie de la distribution des souches sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) dans les services hospitaliers :

« Aperçu par Heatmap »

Le test exact de Fisher a révélé une association statistiquement significative entre l'espèce *K. pneumoniae* et le service de Réanimation (p-value = 0,0385). De plus, une association significative a été observée entre *K. pneumoniae* et le service de Neurochirurgie (p-value = 0,0002), ce qui indique une représentation particulièrement élevée de cette espèce dans ce service spécifique.

Les espèces *K. pneumoniae* et *E. cloacae* présentent un positionnement en un groupe, ce qui indique qu'elles ont des profils uniques dans leur distribution au sein des services hospitaliers (Figure 3.19).

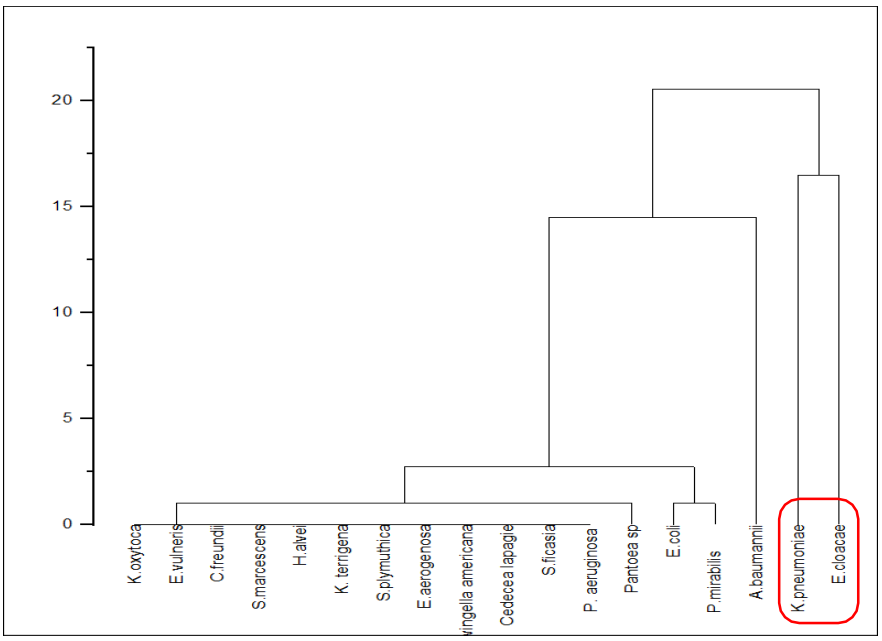

Figure 3.19 : Profil de distribution des souches BLSE par service hospitalier : « Visualisation Dendrogramme »

3.5.2 CMI céphalosporine de 3ème génération seule ou associée

La lecture des CMIs de la céfotaxime en présence et en absence d'inhibiteur (acide clavulanique) met en évidence une différence notable entre les deux valeurs de la CMI. On constate chez les bactéries Gram négatives sécrétrices de β-lactamase à spectre élargi, une réduction de la CMI de la céfotaxime (CTX) en présence d'acide clavulanique par rapport à celle de la céfotaxime seule (Figure 3.20).

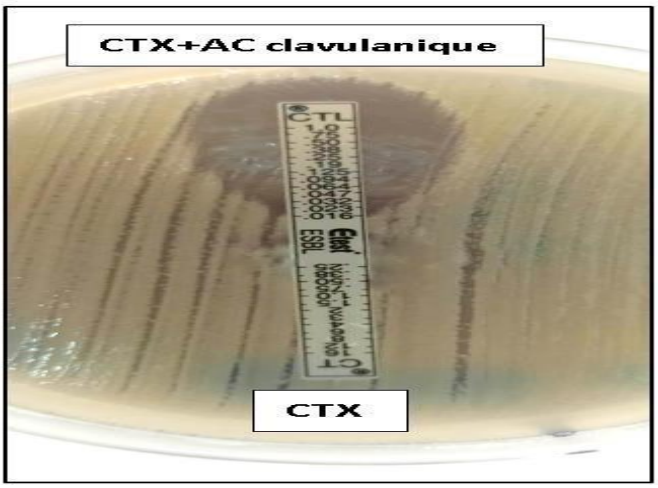

Figure 3.20 : CMI E-test combiné CTX et CTX+ Acide clavulanique.

CMI CTX>16 ; CMI CTX+AC clavulanique=0.23

La répartition des souches EBLSE selon les profils de résistance, telle qu'illustrée dans le tableau 3.13, indique que les souches de *Enterobacter cloacae, Proteus mirabilis et Pantoea spp* expriment les trois profils. Elles sont identifiées en premier lieu chez les *E. cloacae* suivies par les souches de *Klebsiella pneumoniae et Escherichia coli*.

Ce mécanisme de résistance est rarement observé chez les bactéries Gram négatives non fermentaires. Aucune souche de *Pseudomonas aeruginosa* n'est BLSE. En revanche, vingt souches sécrétrices de béta-lactamase ont été identifiées chez *Acinetobacter baumannii*.

La majorité de ces souches (19 sur 20) expriment le profil « I ».

Tableau 3.13: Répartition des EBLSE selon les profils de résistance.

Profil de résistance	*K.pneumoniae*	*E.cloacae*	*P.mirabilis*	*E.coli*	*Pantoae.ssp*	Total
I	11	7	0	2	0	20
II	18	36	0	5	1	60
III	0	0	4	0	0	4
Total	29	43	4	7	1	84

Les souches résistantes et non sécrétrices de béta-lactamase (voir figure 3. 21) pourraient probablement présenter un autre mécanisme de résistance aux bêta-lactames.

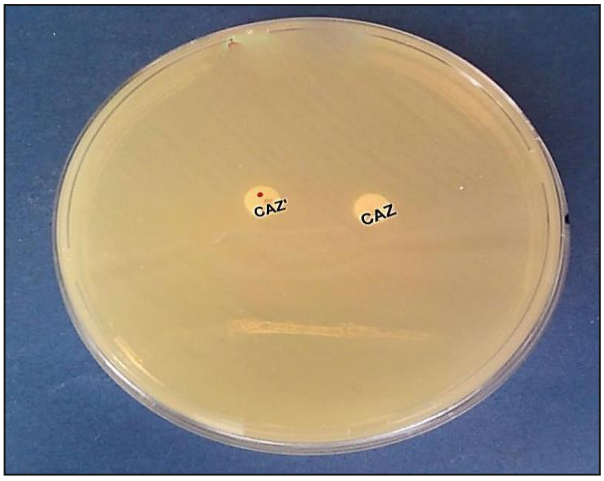

Figure 3.21 : Souche de *A. baumannii* résistante à la cétazidime
(Test de double disque négatif).

3.5.2. Bactéries Gram négative sécrétrices de céphalosporinase à haut niveau (CHN)

La sécrétion de céphalosporinase à haut niveau est observée chez 25/148 souches qui ne sont pas considérées comme des BLSE (figure 3.22).

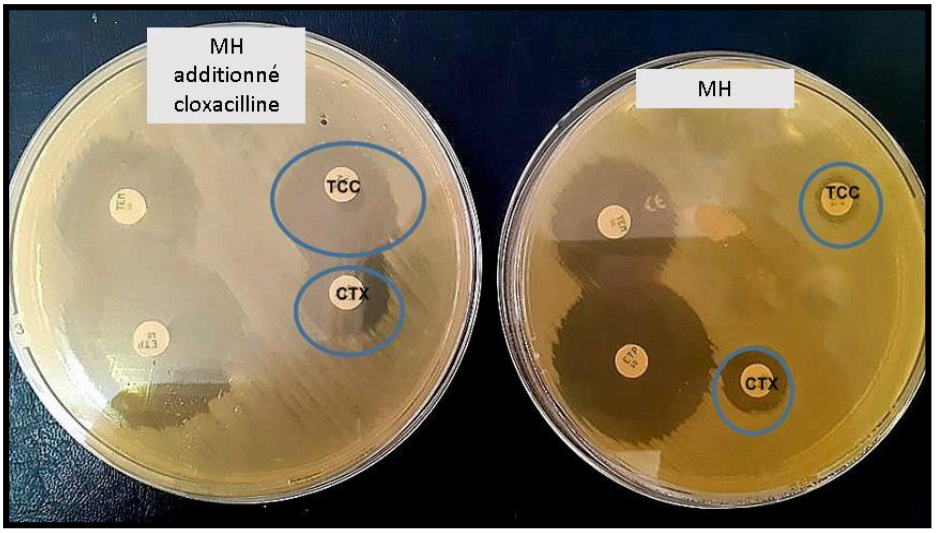

Figure 3.22 : Test à la cloxacilline positif d'une souche *K.pneumoniae* profil de résistance « II ».

Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Céfotaxime (CTX)

La mise en évidence des céphalosporinases hyper produites est faite essentiellement par le test à la cloxacilline sur MH et MH additionné de cloxacilline. Ce mécanisme est retrouvée essentiellement chez 16 souches du profil IV dite non multirésistantes (indice de multirésistance inférieur à 0,5), ainsi que chez deux *K.pneumoniae* du profil « I » qui présentent un test de double disque négatif.

Ce mécanisme n'a été identifié que chez sept souches de *P.aeruginosa* qui présentent des profils de résistance "I".

Dix souches de *A. baumannii* ont exprimé le profil de résistance suivant : « AMK,CAZ, GEN, TOB,PIP, SXT, TCC et TIC » et qui présentent un test de double disque négatif. Le même résultat est obtenu pour le test à la cloxacilline. Ces souches ne sont ni des BLSE ni sécrétrices de CHN (figure 3.23).

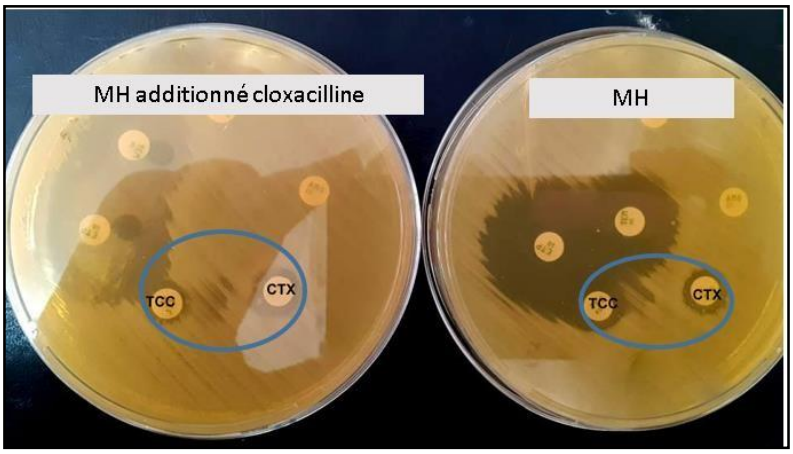

Figure 3.23 : Test de cloxacilline négatif d'une souche de *A.baumannii*.

Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Céfotaxime (CTX)

La figure 3.24 montre la répartition des souches sécrétrices de carbapénémases selon les services hospitaliers, les classant en deux clusters avec des profils de similarité entre les espèces. L'analyse du test du khi-deux, avec un niveau de risque de 0,05, ne permet pas de conclure à une association significative entre l'espèce bactérienne isolée et le service hospitalier, car la p-value est supérieure à 0,09827. Ceci suggère qu'aucune différence significative n'est observée dans la répartition des espèces bactériennes entre les différents services hospitaliers.

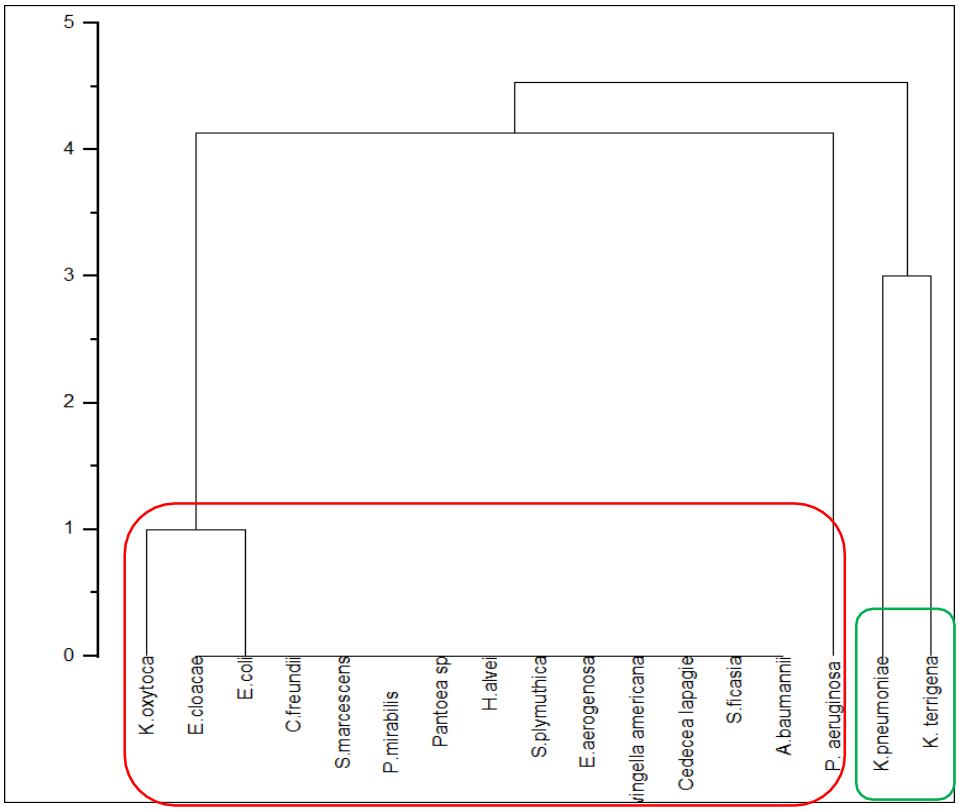

Figure 3.24 : Dendrogramme de la distribution des souches CHN selon les services hospitaliers

3.5.3. Bactéries Gram négative sécrétrices de carbapénèmases

Le mécanisme de résistance aux carbapénèmes est identifié chez 66(44,59%) souches multirésistantes. Nous les avons recherchés dans un premier temps par le test de Hodge modifié qui suggère une production de carbapénèmase. La déformation du diamètre à l'intersection entre une strie et la culture signe la présence d'une hydrolyse des carbapénèmes par la souche testée.

Le test de Hodge modifié est illustré dans la figure3.25, selon le changement de couleur, passant du rouge au jaune-orangé au niveau des tubes, on peut déterminer les souches sécrétrices de carbapénèmase.

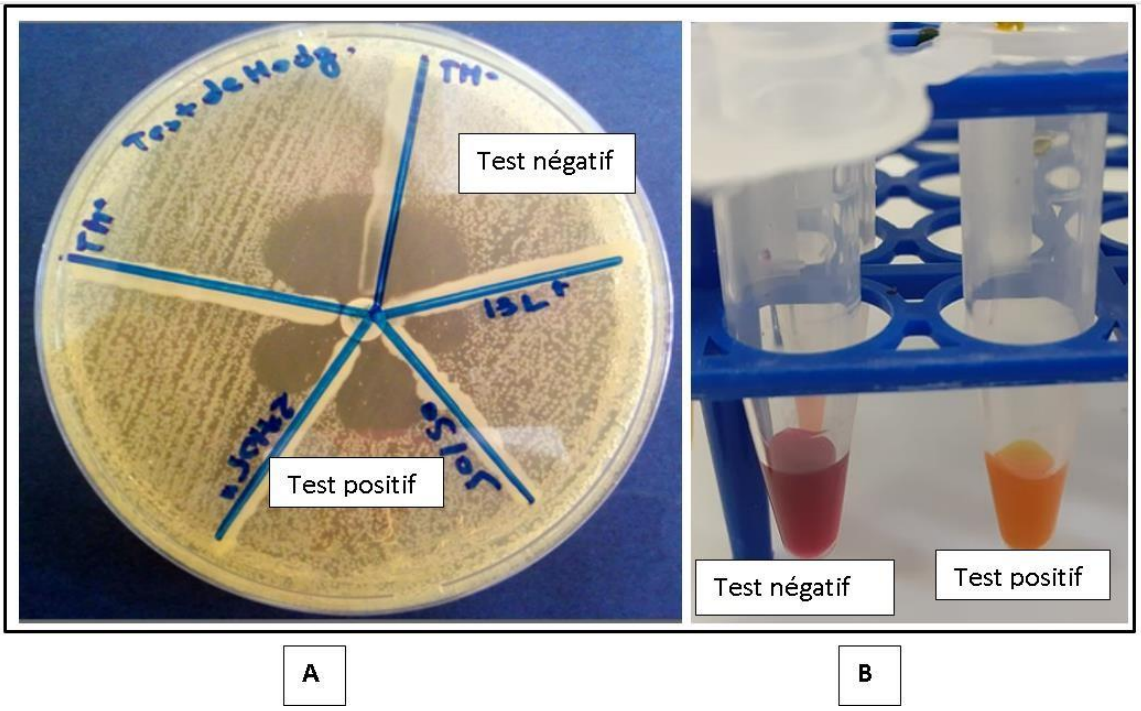

Figure 3.25: Caractérisation des souches résistantes aux carbapénèmes

A: Test de Hodge ; B : Test Carba NP.

La résistance aux carbapénèmes, une classe d'antibiotiques importante, pour les bactéries est une préoccupation majeure en matière de santé publique. Les carbapénèmes sont souvent utilisés en dernier recours pour traiter les infections bactériennes résistantes à d'autres antibiotiques. La présence de carbapénèmases, des enzymes capables de dégrader les carbapénèmes, rend ces bactéries extrêmement difficiles à traiter. Environ 25,49% des entérobactéries présentent une sécrétion de carbapénèmases, ce qui indique une certaine prévalence de ce mécanisme de résistance dans cette catégorie bactérienne.

En ce qui concerne les bacilles à Gram négatif non fermentaires, nous avons observé que ce mécanisme de résistance est prédominant (100%), cela souligne l'importance de surveiller et de comprendre les mécanismes de résistance aux antibiotiques pour orienter les stratégies de traitement et de prévention des infections bactériennes.

Il semble que, pour ces souches spécifiques, la résistance aux carbapénèmes soit principalement attribuée à la sécrétion de métallo-β-lactamases. Ce mécanisme particulier est détecté par un résultat positif au test de disque combiné à l'EDTA chez 100% des entérobactéries et chez 89,13% (41/46) des BGNnf (Figure 3.26). Une différence notable entre les CMIs de l'imipénème (Tableaux 3.9 et 3.10) en présence et en l'absence de l'inhibiteur (EDTA) est clairement observée (figure 3.27), soulignant ainsi le rôle prédominant des métallo-β-lactamases dans le développement de la résistance aux carbapénèmes pour ces souches bactériennes.

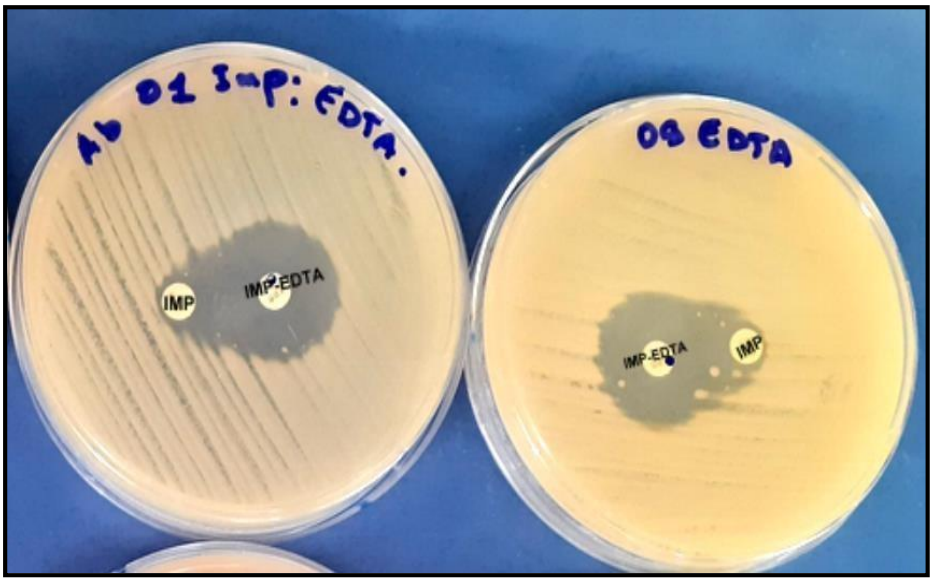

Figure 3.26 : Test de disque combiné à IMP et IMP-EDTA positif.

Parmi les entérobactéries sécrétant des métallo-β-lactamases, 84,61% (22/26) présentent le profil de résistance I, caractérisé par la résistance aux antibiotiques suivants : AMC, AK, CF, CIP, CTX, FOX, GN, IMP, MER, ERT, NA et SXT. De ces souches, 10/26 sont identifiées comme *K. pneumoniae*, 10/26 comme *E. cloacae* et 2/26 comme *E. coli. Proteus mirabilis* est représenté *par* quatre souches (15,38%), qui expriment le profil III (tableau 3.14).

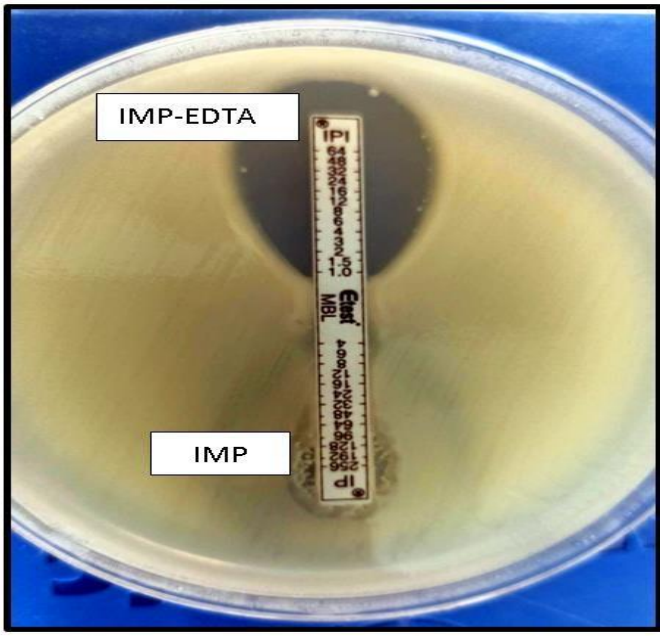

Figure 3.27 : CMI E-test combiné IMP et IMP+ EDTA.

Tableau 3.14 : Répartition des entérobactéries sécrétrices de métallo-β-lactamases selon les profils de résistance

Profil de résistance	*K.pneumoniae*	*E.cloacae*	*P.mirabilis*	*E.coli*	Total
I	10	10	0	2	22
III	0	0	4	0	04

En ce qui concerne les bacilles à Gram négatif non fermentaires résistant aux carbapénèmes, 39/46 sont sécrétrices de métallo-β-lactamases. La répartition de ces souches est présentée dans le tableau 3.15.

Tableau 3.15 : Répartition des BGNnf sécrétrices de métallo-β-lactamases selon les profils de résistance.

Profil de résistance / Espèce	Profil I	Profil II	Profil III
A.baumannii	18 (78,26%)	10 (100%)	6 (100%)
P.aeruginosa	5 (21,73%)	0	0

Parmi les huit bacilles à Gram négatif non fermentaires, cinq sont des *A. baumannii* et deux des *P. aeruginosa*, montrent un résultat négatif au test d'EDTA

(figure 3.28). Leur résistance aux carbapénèmes ne dépend donc pas de la sécrétion de métallo-β-lactamases.

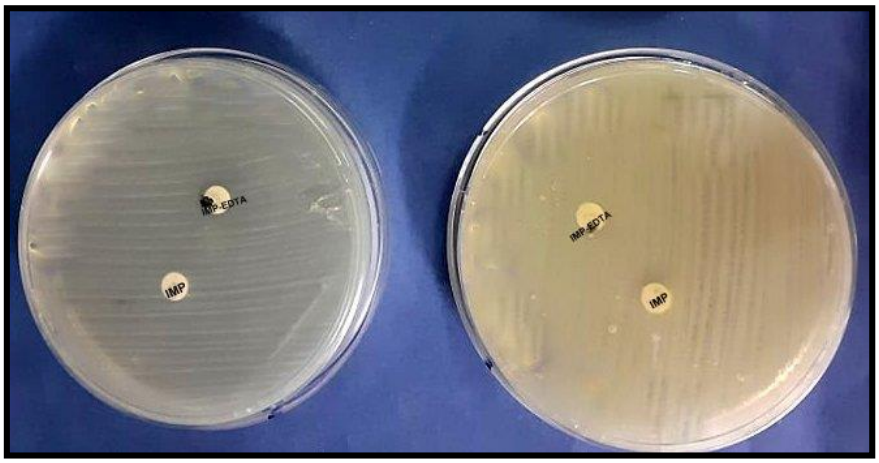

Figure 3.28 : Test de disque combiné à EDTA négatif deux souches de *A. baumannii* et de *P. aeruginosa* .

L'analyse du heatmap (Figure 3.29), qui illustre la distribution des souches sécrétrices de métallo-bêta-lactamases (MBL) dans divers services hospitaliers, met en évidence les variations de fréquence ou d'intensité de ces souches. À l'aide d'une échelle de couleurs appropriée, les zones plus sombres ou les cellules plus intenses indiquent une proportion plus élevée de souches sécrétrices de MBL, tandis que les zones plus claires ou les cellules moins intenses correspondent à une fréquence plus faible. Il est notable que le service de réanimation, traumatologie et gynécologie de l'EPH Boufarik présente un "hot spot" de souches sécrétrices de MBL chez *A. baumannii,* signalant une fréquence élevée. De plus, la Figure 3.29 révèle une fréquence élevée d'isolats de *Klebsiella pneumoniae* sécrétrice de métallo-bêta-lactamases (MBL) au sein du service de neurochirurgie.

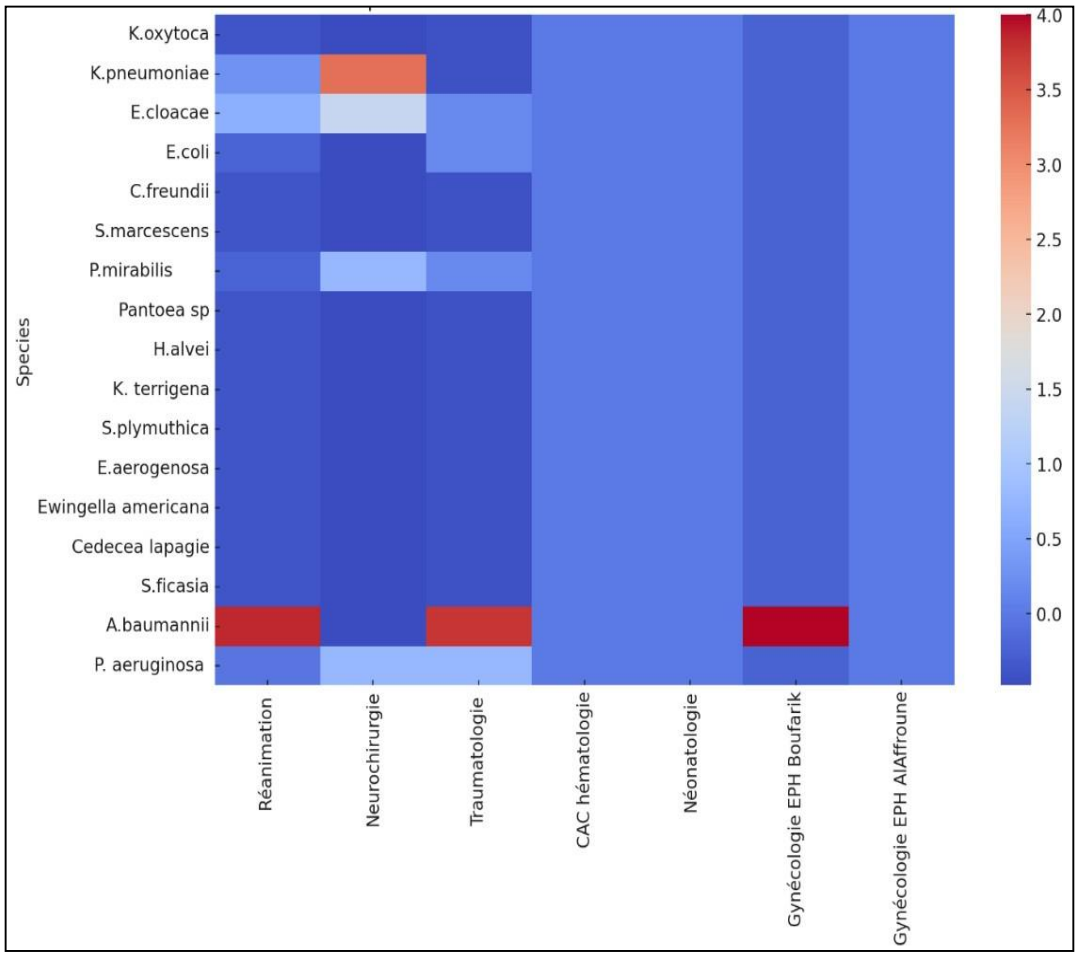

Figure 3.29 : Cartographie de la distribution des souches sécrétrices de métallo-bêta-lactamases (MBL) dans les services hospitaliers.

Les résultats du test du khi-deux suggèrent une association significative entre les souches sécrétrices de MBL et le service hospitalier où elles ont été observées (p-value <0,05). Ces constatations indiquent que la répartition des espèces n'est pas aléatoire, mais plutôt dépendante du service, révélant ainsi un lien réel et non une simple indépendance entre les variables étudiées.

- **Test de témocilline**

Aucune présence de carbapénèmase de type OXA-48 n'est observée. Toutes les souches BGN testées présentent un résultat négatif au test de témocilline (Voir figure 3.30).

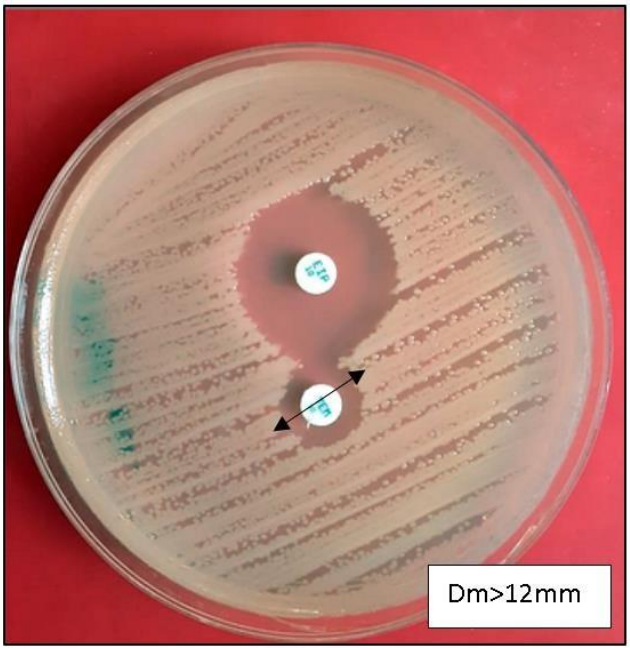

Figure 3.30 : Test de témocilline négatif chez *A. baumannii* sécrétrice de métallo-β-lactamase.

TEM :TEMOCILLINE

3.6. Caractérisation du profil de résistance des BGN multirésistantes

Dans le cadre de cette étude, quatre mécanismes de résistance ont été identifiés parmi les 148 bacilles à Gram négatif résistants isolés :

- La sécrétion de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) est le mécanisme le plus fréquemment observé chez les entérobactéries multirésistantes, représentant un taux de 82,35 %.
- 86,95 % des BGN non fermentaires (BGNnf) présentent une sécrétion de métallo-β-lactamases (MBL).
- La sécrétion de céphalosporinases à haut niveau est notée chez 15,68% des entérobactéries résistantes et chez 100% des *P. aeruginosa* résistantes.
- L'association entre les métallo-β-lactamases et les BLSE est observée chez 49/148 (33,10%) dont 23/49 chez *A. baumanni*i et 26/49 chez les entérobactéries.
- L'association entre les métallo-β-lactamases et les CHN est observée uniquement chez les *P. aeruginosa (*5/148)

En outre, certaines souches de BGNnf, soit 8/46, présentent une résistance aux carbapénèmes sans toutefois présenter de production de métallo-β-lactamases, comme le confirme le test d'EDTA avec un résultat négatif (Tableau 3.15)

3.7. Gènes de résistance chez quelques BGN multi-résistantes isolées

La recherche des gènes de résistance *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{KPC}$ et *bla*$_{NDM}$ a été réalisée pour 21 souches, sélectionnées en raison de leur importance liée à leur profil de résistance et au site de prélèvement. Cette sélection s'est basée sur l'intérêt de détecter les souches isolées à partir de sites présentant un risque élevé de transmission croisée et une possibilité de diffusion des gènes.

Parmi ces 21 souches, dix étaient des entérobactéries, sept étaient des *A. baumannii*, et quatre étaient des *P. aeruginosa*. Chacune de ces souches représentait un profil de résistance distinct c'est-à-dire qu'elles portaient un mécanisme unique ou combiné, non répété pour l'espèce comme indiqué dans la répartition présentée dans le tableau suivant :

Tableau 3.16 : Répartition des BGN multirésistants testés pour les différents gènes de résistance

		Souches	Mécanisme	*bla*$_{CTX-M}$	*bla*$_{KPC}$	*bla*$_{NDM}$
Enterobacteriaceae	*K.pneumoniae*	Kr 7 Kcac1	BLSE	2	0	0
	E.cloacae	Ecln7 Ecln8		2		
	K.pneumoniae	Kn5 Kt1	BLSE+MBL	2	0	2
	E.cloacae	E.clo r3 E.clo n3		2		2
	P.mirabilis	Prot 1 Prot 5		2		2
BGNnf	*A.baumannii*	Aba33 Aba40 Aba41	MBL-	2	3	3
		Aba1 Aba7 Aba25 Aba38	BLSE+MBL	4	4	4
	P.aeruginosa	Pae1 Pae3 Pae4	CHN+MBL	3	3	3
		Pae7	MBL-	1	1	1

D'après le tableau 3.17, Le gène *bla*$_{CTX-M}$ a été détecté chez onze sur le des souches testées, comprenant cinq entérobactéries. Ces souches sont réparties entre deux mécanismes : trois présentent une résistance liée à une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) et quatre une combinaison de BLSE et de métallo-β-lactamases (MBL).

Le gène *bla*$_{CTX-M}$ est également présent chez trois souches de *A. baumannii* présentant une combinaison de BLSE et MBL, représentant 33,3% du total. Tandis qu'il est identifié que chez une seule souche de *P. aeruginosa* (figure 3.31).

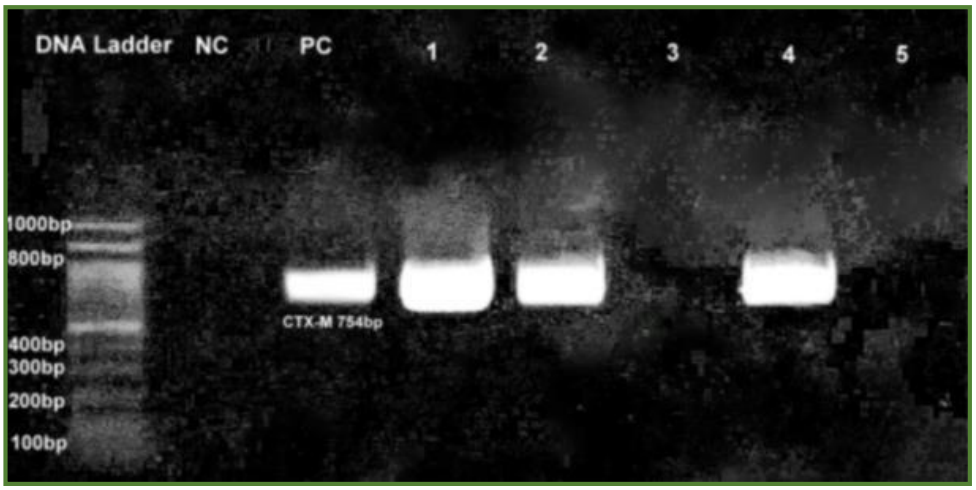

Figure 3.31 : Gel d'agarose des produits PCR du gène bla*CTX-M*

NC : contrôle négatif ; PC : contrôle positif ; 1 : Kr 7**; 2 :** Kcac1 **; 3 :** E.clo r3 **; 4 :** Aba27 **; 5 :**Kt1**.**

Le gène *bla*$_{NDM}$ a été identifié chez la majorité des souches sécrétrices de métallo-β-lactamases (MBL) testées (tableau 3.17), incluant 3/5 des entérobactéries (*P. mirabilis* Prot1, Prot 5 et *E. cloacae* E.clo n3, 3/4 de *A. baumannii (*Aba1,Aba 25 et Aba 38), et une seule souche de *P. aeruginosa (*Pae 3) (Figure 3.32) .

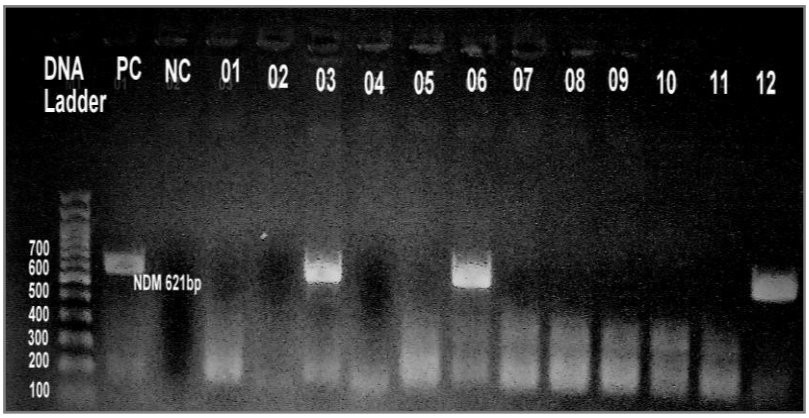

Figure 3.32 : Gel d'agarose des produits PCR du gène bla*NDM*

NC : contrôle négatif **; PC :** contrôlel positif **; 1 :** Aba 7**; 2 :** Aba 30**; 3 :** E.clo n3**; 4 :** Aba 33 **; 5 :** Pae7 **; 6 :** Aba40 **; 7 :**Aba 28 **; 8:** kt1 **; 9:** E.clo r3**; 10:** Pae 4 **; 11 :** Pae 3 ; **12 :** Prot1

En revanche, le gène bla*KPC* a été détecté chez ¨trois souches de *A. baumannii* et une souche de *P. aeruginosa* qui ne sécrètent pas de métallo-β-lactamases (Figure 3.33)

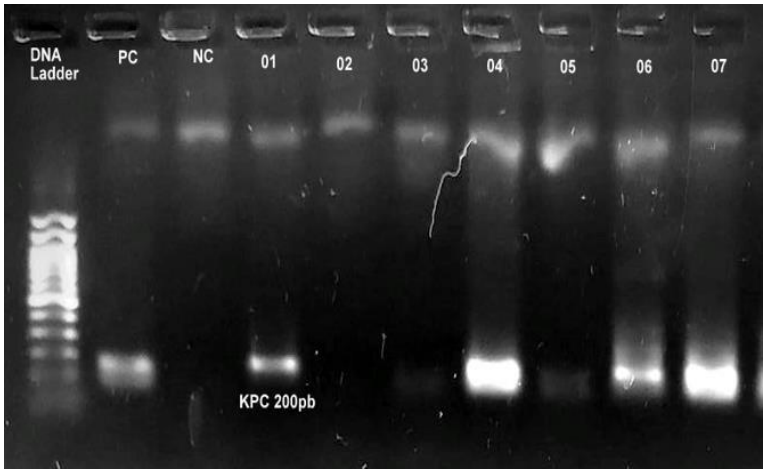

Figure 3.33 : Gel d'agarose des produits PCR du gène bla*KPC*

NC : control négatif ; PC : control positif ; 1 : Aba41 **; 2 :** Pae4**; 3 :** Pae3**; 4 :** Pae7 **; 5 :** Aba 27 **; 6 :** Aba33 **; 7 :** Aba40**.**

Trois souches de *A. baumannii* (Aba1, Aba25 et Aba38) et des entérobactéries (E.clo n3,Prot 1,Prot 5)hébergent à la fois les gènes bla*NDM* et bla*CTX-M*, comme indiqué dans le tableau 3.17.

Tableau 3.17 : Répartition des mécanismes de résistance selon gènes *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{KPC}$ et *bla*$_{NDM}$

Mécanisme de résistance	Gène de résistance BGN	*bla*$_{CTX-M}$	*bla*$_{KPC}$	*bla*$_{NDM}$
BLSE	Kcac1	1	0	0
	Ecln7 Ecln8	2	0	0
BLSE+MBL	Kn3	1	0	1
	Prot 1 Prot 5	2	0	2
	E.clo n3	1	0	1
	Aba1 Aba25 Aba38	3	0	3
MBL-	Aba33 Aba40 Aba41	0	3	0
	Pae7	0	1	0
CHN+MBL	*Pae1*	1	0	1
	Total	11 (55%)	4 (36,36%)	8 (47,05%)

3.8. Potentiel de formation de biofilm chez BGN résistantes isolées

La grande majorité des souches résistantes, soit 140 sur 148 (94, 59%), présentent une production de biofilm. Cette caractéristique se traduit par l'apparence noire cristalline de ces souches sur le milieu contenant du rouge Congo, comme représenté dans la figure 3.26.

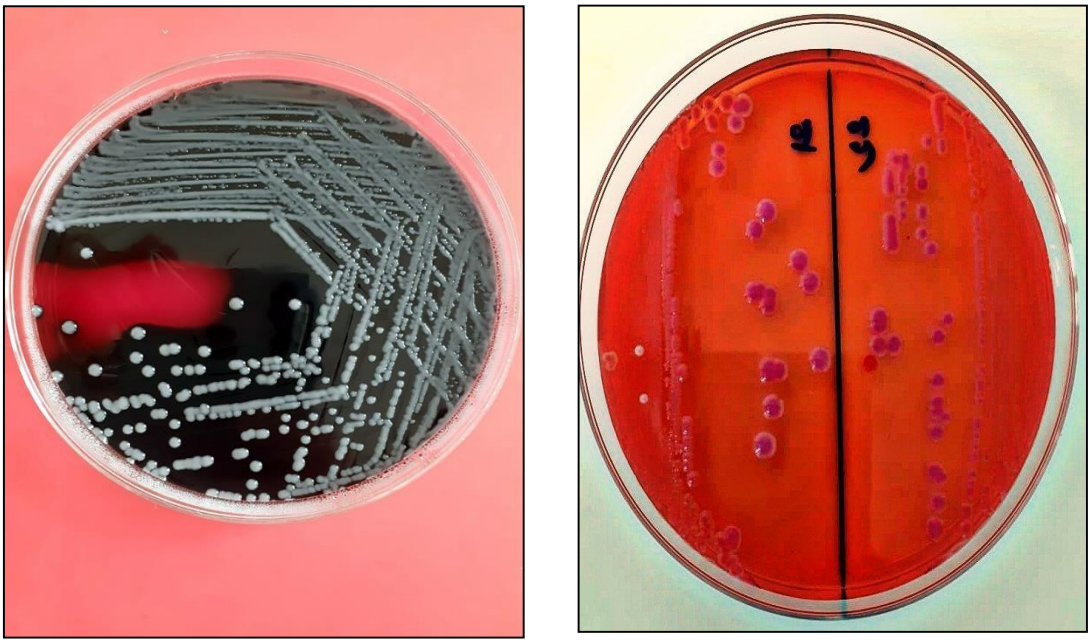

Figure 3.34 : Aspect des souches Productrices de biofilm sur milieu rouge Congo

96, 07 % (98/102) des entérobactéries et 91,30% (42/46) des BGNnf présentent une capacité de formation de biofilm. La caractérisation qualitative du potentiel de formation de biofilm a permis de classer ces souches en catégories : faible, modérée et forte, en fonction de l'aspect du halo observé au niveau des parois des tubes, comme illustré dans la figure 3.35.

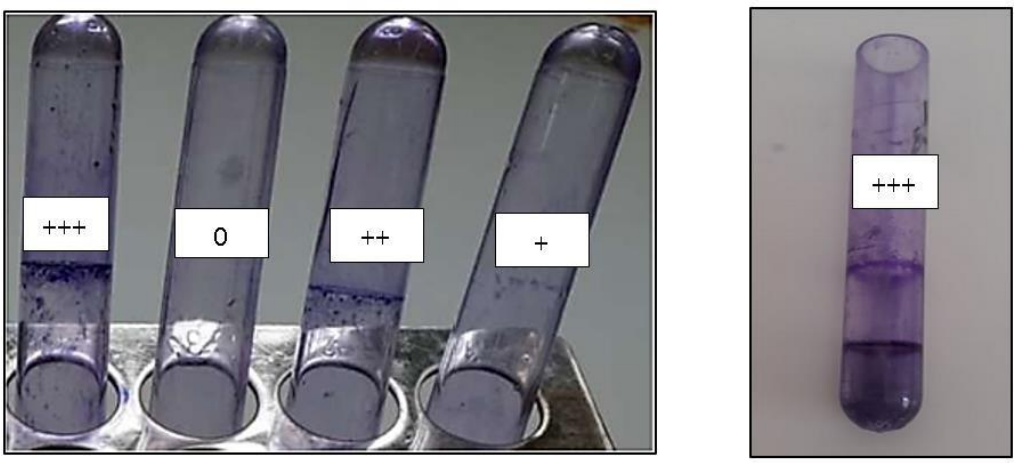

Figure 3.35: Aspect du biofilm par la méthode de tube

0 : Absence du biofilm ; + : faible ; ++ : modéré ; +++ : fort

La validation des résultats du test qualitatif est obtenue par les valeurs de densité optique (DO). (voir Appendice J).

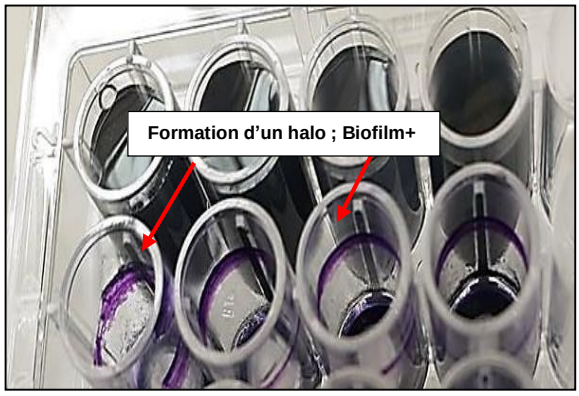

Figure 3.36 : Aspect du biofilm sur plaque avant lecture de la DO.

La plupart des souches BGN présentent une capacité élevée de formation de biofilm, en particulier chez les entérobactéries, comparativement aux bactéries Gram négatives non fermentaires, comme indiqué dans le Tableau 3.18.

Tableau 3.18 : Répartition des BGN isolées selon leurs potentiels de formation de biofilm.

Potentiel du biofilm / Souche	Non productrice	faible	Modéré	Fort
Entérobactéries	4	11	34	53
BGNnf	4	14	6	22
Total	8 5,40%	25 16,89%	40 27,02%	75 50,67%

La Figure 3.37 montre la distribution des entérobactéries formant des biofilms en fonction des quatre profils de résistance, suggérant que la plupart des souches exprimant le profil « II » possèdent la capacité de former un biofilm.

Par ailleurs, les souches multirésistantes de *K. pneumoniae, E. cloacae, E. coli et P. mirabilis*, qui présentent les profils « I », « II » et « IV », ainsi que les souches non multirésistantes avec le profil « IV », montrent une tendance à la persistance, avec un potentiel significativement élevé. Cette observation est particulièrement marquée chez les souches de *K. terrigena et de E. coli*, comme le montre la Figure 3.37.

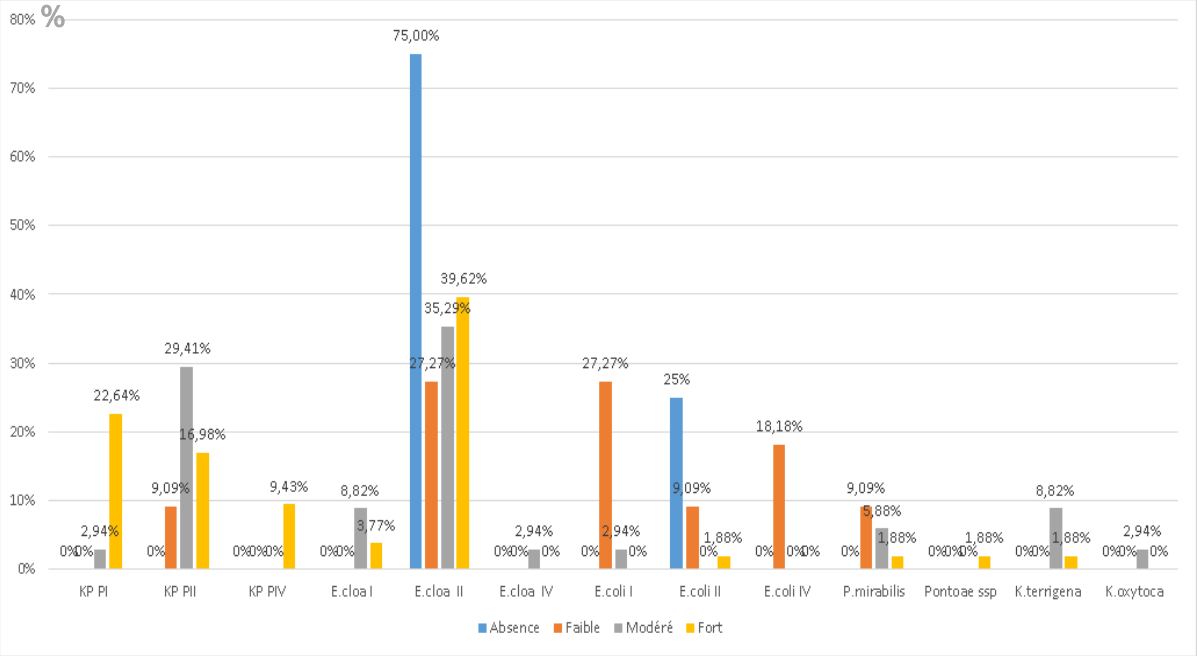

Figure 3.37 : Répartition des différentes espèces d'entérobactéries résistantes selon leur potentiel de formation de biofilm.

KP PI : *K. pneumoniae* profile « I » ; **KP PII :** *K. pneumoniae* profile « II »; **KP PIV :** *K. pneumoniae* profile « IV »; **E.cloa I:** *E. cloacae* profile « I »; **E.cloa II:** *E. cloacae* profile « II »; **E.cloa IV:** *E. cloacae* profile « IV» **; E.coli I :** *E.coli* profile « I » ; **E.coli II :** *E.coli* profile « II » ; **E.coli IV :** *E.coli* profile«IV »

Parmi les bacilles à Gram négatif non fermentaires les souches caractérisées par les profils I et II se distinguent par une forte capacité de formation de biofilm. Cette tendance est particulièrement remarquable pour les souches de *A. baumannii* (profils I et II) ainsi que pour l'ensemble des souches de *P. aeruginosa. T*outes présentent une forte capacité de formation de biofilm, comme le montre la figure 3.38.

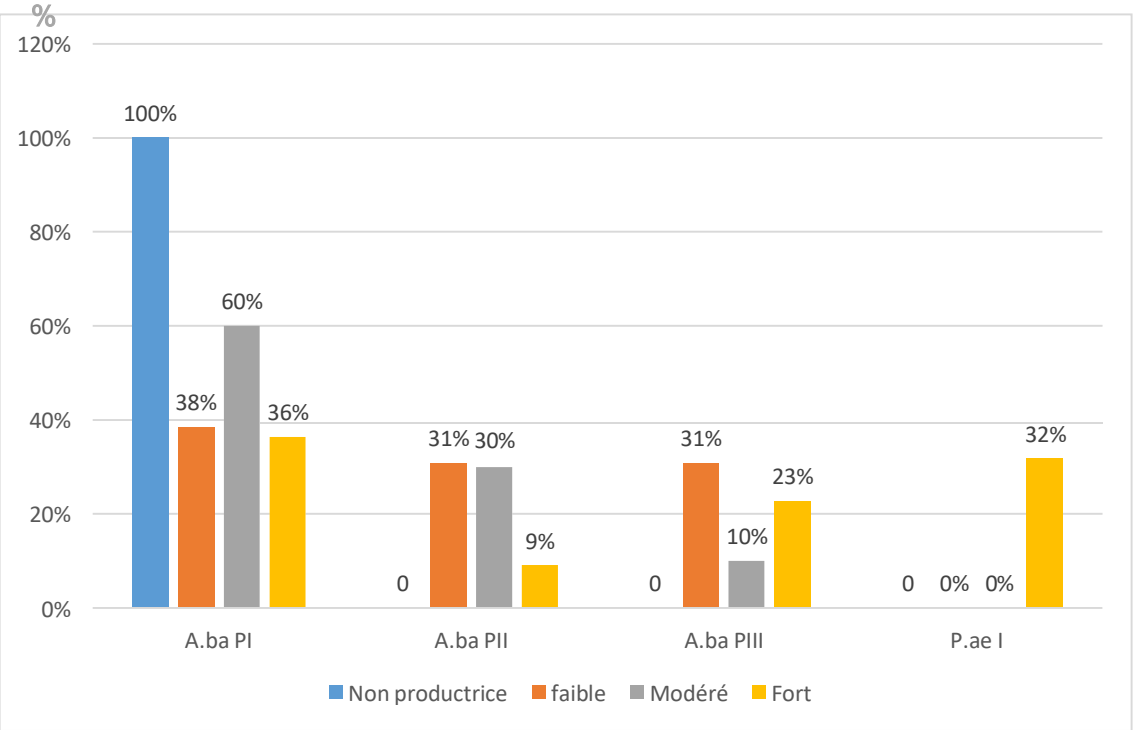

Figure 3.38 : Répartition des *A. baumannii* et *P.aeruginosa* résistantes selon leur potentiel de formation de biofilm.

A.ba PI : *A. baumannii* profil « I »; **A.ba PII :** *A. baumannii* profil « II »; **A.ba PIII :** *A. baumannii* profile « III »; **P.ae I:** *P.aeruginosa* profil « I ».

L'analyse graphique (figure 3.39) révèle une relation entre le nombre croissant de gènes de résistance et l'augmentation de la multirésistance, mais aussi une diminution de la capacité à former un biofilm. Pour quantifier ces tendances, une régression linéaire a été appliquée pour modéliser les relations entre les variables mesurées. L'équation de régression obtenue est :

$$Y=2.147+0.087\ (X1)-0.334\ (X2)$$

L'équation modélise la relation entre la capacité de formation d'un biofilm (Y), le nombre de gènes de résistance (X1) et le niveau de multirésistance (X2). Les coefficients attribués à X1 et X2 indiquent l'impact de ces variables sur la capacité de formation du biofilm. Une augmentation de X1 est associée à une augmentation de la capacité de formation du biofilm, tandis qu'une augmentation de X2 est liée à une diminution de cette capacité.

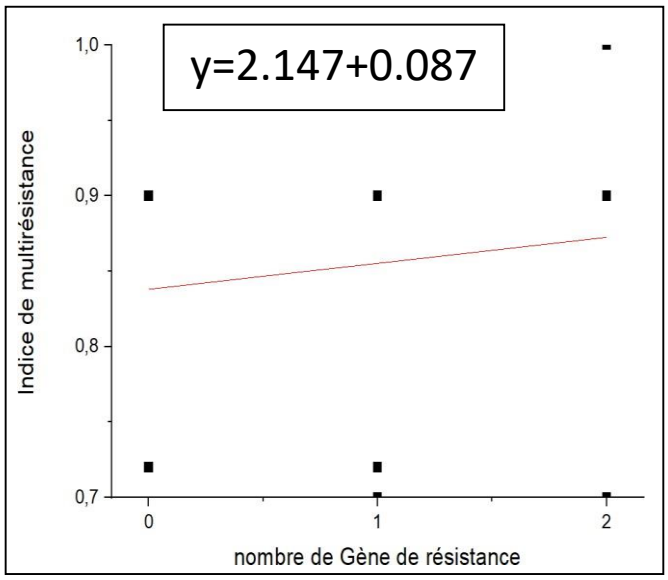

Figure 3.39 : Corrélation entre la résistance aux antibiotiques, la multirésistance et la formation de biofilms chez les bactéries.

Les résultats de l'analyse révèlent des corrélations significatives entre divers paramètres liés à la résistance aux antibiotiques et à la formation de biofilm chez les bactéries, comme illustré dans la figure 3.40. Les cellules présentant une corrélation positive significative sont indiquées par la couleur rouge (coefficients de corrélation compris entre 0,14 et 0,3), tandis que les corrélations négatives importantes sont représentées en bleu. En d'autres termes, il existe une relation dans une communauté bactérienne où la présence d'un grand nombre de gènes de résistance est associée à une amélioration de la formation de biofilm. Cependant, il est important de noter que lorsque la bactérie devient multirésistante, avec de nombreux gènes de résistance, sa capacité à former un biofilm tend à diminuer.

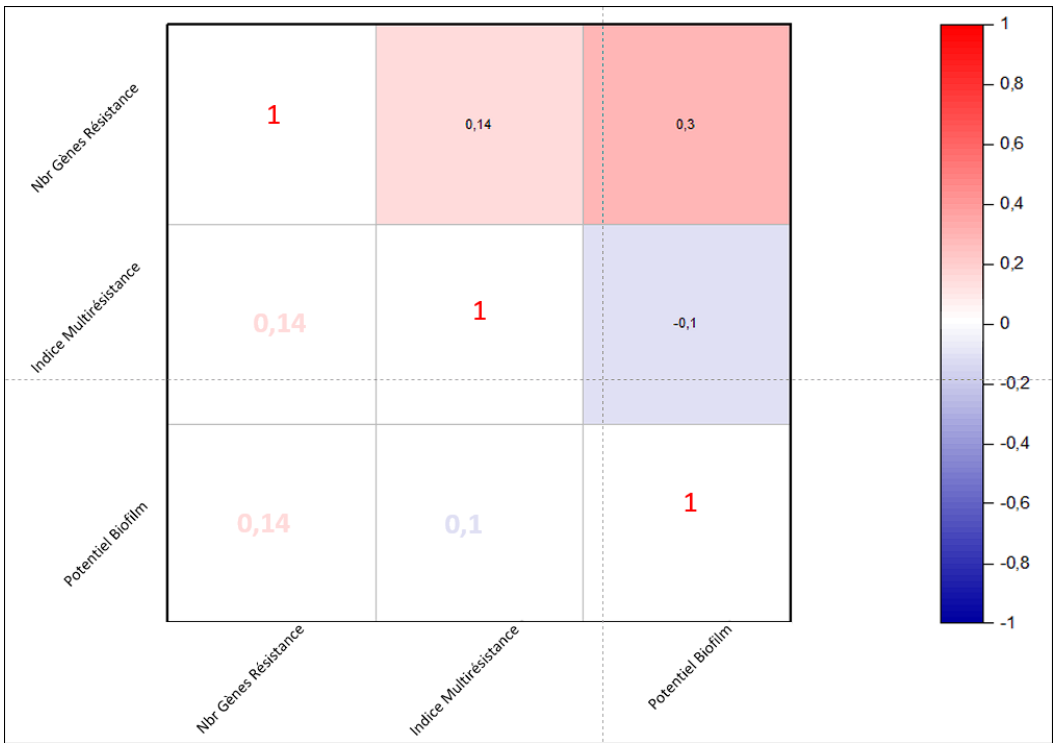

Figure 3.40 : Visualisation de la corrélation multiple entre la résistance aux antibiotiques, multirésistance et formation de biofilms chez les bactéries isolées

3.9. Répartition des bactéries Gram négatives résistantes au niveau des différents établissements étudiés « Enquêtes de prévalence »

3.9.1. Centre hospitalo-universitaire Frantz Fanon « 2019-2021 »

3.9.1.1. Réanimation

En se référant aux Tableaux 3.3 et 3.19, dix espèces de bacilles à Gram négatif (BGN) ont été isolées à partir de divers échantillons de surfaces et de dispositifs médicaux, parmi lesquelles huit appartiennent aux entérobactéries.

Un pourcentage de 63,51% (47/74) des bacilles à Gram négatif (BGN) isolés présente une résistance multiple, comprenant 40,4% (19/47) d'entérobactéries et 59,50% (28/47) de BGN non fermentants (BGNnf).

Avec 53,10% représentés par 25 cas, *Acinetobacter baumannii* est l'espèce majoritairement multirésistante, suivie de *Enterobacter cloacae et Klebsiella pneumoniae* avec respectivement 17% (8 cas).

Tableau 3.19 : Fréquence des BGN isolées au niveau de service de réanimation

BGN	Espèces	Fréquence des Souches isolées	Fréquence des Souches multirésistantes
Entérobactéries	*K.oxytoca*	2 (2,70%)	0%
	K.pneumoniae	14 (18,91%)	8 (17,00%)
	E.cloacae	10 (13,51%)	8 (17,00%)
	E.coli	2 (2,70%)	1 (2,10%)
	C.freundii	4 (5,40%)	0%
	S.marcescens	4 (5,40%)	0%
	P.mirabilis	2 (2,70%)	1 (2,10%)
	Pantoea sp	4 (5,40%)	1 (2,10%)
BGNnf	*A.baumannii*	25 (33,78%)	25 (53,10%)
	P. aeruginosa	7(9,45%)	3 (6,3%)
Total	10 espèces	74	47

Dans cette unité, les entérobactéries et les BGNnf multirésistants présentent les trois profils de multirésistance, comme indiqué par le tableau 3.20.

Tableau 3.20: Répartition des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de réanimation selon les profils de résistance.

	Profil de résistance	Profil de résistance	% n
Profil I	AMC AK CF CIP CTX, ERT FOX GN IMP MER NA SXT	*K.pneumoniae*	8,51% 4
		E.cloacae	12,76% 6
	AMK CAZ GEN IMP LVX MEM PIP SXT TCC TIC TOB	*A.baumannii*	31,91% 16
		P. aeruginosa	6,38% 3
Profil II	AMC, AK,CF, CIP, CTX, FOX,GN, NA et SXT	*K.pneumoniae*	8,51% 4
		E.cloacae	4,25% 2
		E.coli	2,12% 1
		Pantoea sp	2,12% 1
	CAZ GEN LVX TOB IMP MEM PIP SXT TCC TIC	*A.baumannii*	14,89% 9
Profil III	AMC, AK,CF, CIP, CTX, ERT,FOX,GN,IMP,MER,NA, SXT,CS	*P.mirabilis*	2,12% 1
			47

La grande majorité des entérobactéries isolées affichent les profils « I » (10 sur 19) et « II » (8 sur 19), tandis que la totalité des souches de *Proteus mirabilis*, soit 100%, correspondent au profil « III ».

Au sein de cette unité, une fréquence élevée d'isolement est observée pour les bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNnf), en particulier *A. baumannii* multirésistante, répartis entre les trois profils de résistance, comme indiqué dans le tableau 3.17. En ce qui concerne *P. aeruginosa*, trois souches présentent le profil de multi-résistance « I ».

Selon la figure 3.41, les souches résistantes aux carbapénèmes (39/47) présentent des valeurs de CMI élevées, atteignant 256 µg/ml, pouvant parfois atteindre ou dépasser 512 µg/ml.

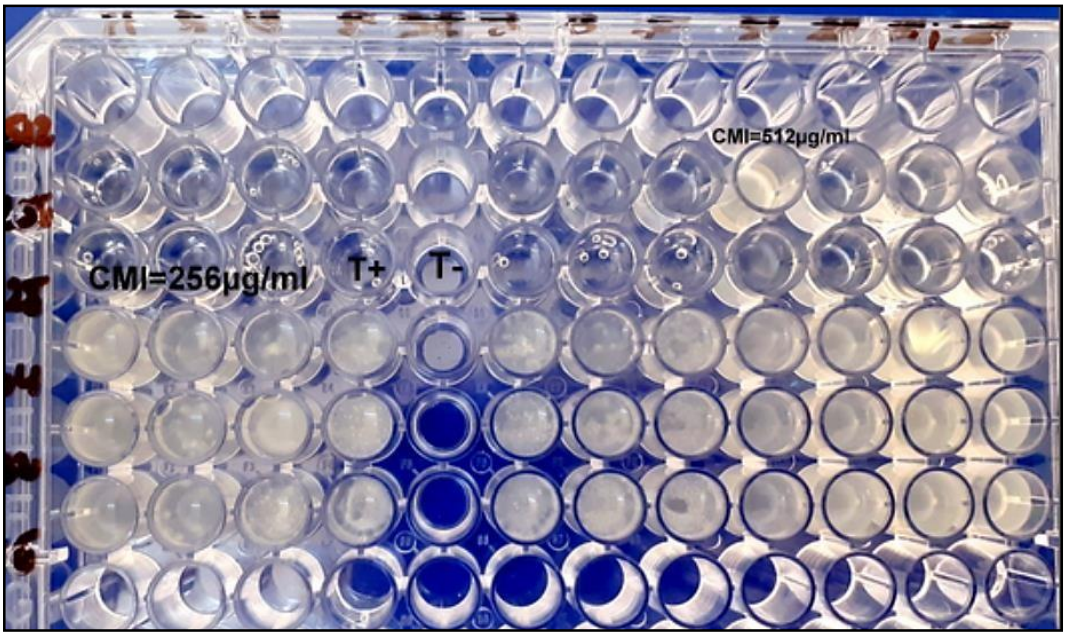

Figure 3.41 : Détermination de la CMI de la méropénème en milieu liquide a été réalisée pour les BGN isolés au sein du service de réanimation.

La concentration minimale inhibitrice de la colistine, telle qu'illustrée dans la figure 3.42, confirme la sensibilité des bacilles à Gram négatif (BGN) isolés, tout en mettant en évidence la résistance des souches de *P. mirabilis* à cet antibiotique.

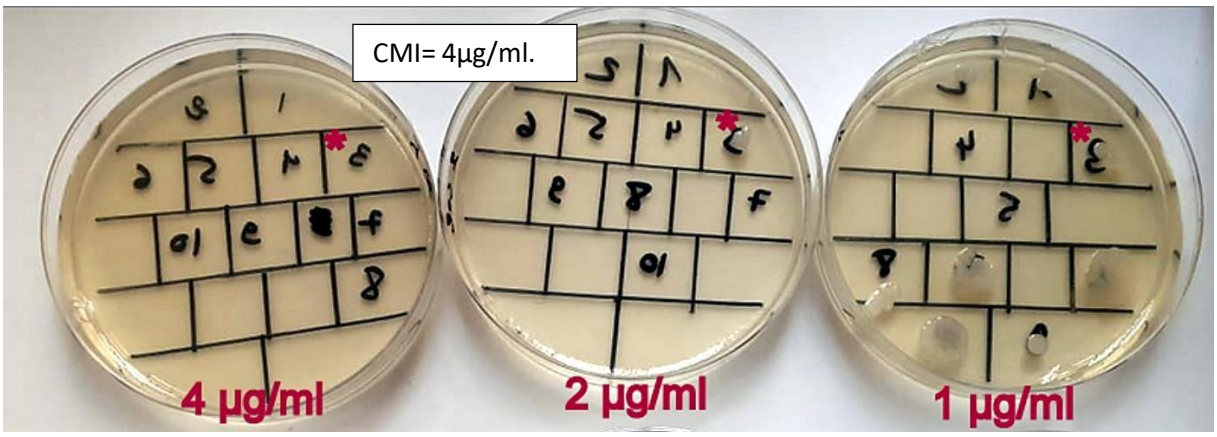

Figure 3.42 : CMI de la Colistine sur milieu solide pour les souches isolées au niveau de la réanimation

Les résultats des tests complémentaires ont permis d'identifier les mécanismes de résistance au sein des souches multirésistantes isolées, comme spécifié dans le tableau 3.21.

Tableau 3.21: Fréquence des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de réanimation selon les mécanismes de résistance.

Bactéries Gram négatives	Mécanisme de résistance / Espèce	BLSE	MBL	MBL+BLSE	CHN	CHN+MBL
Enterobactéries	*K. pneumoniae*	8	4	4	0	0
	E.cloacae	8	6	6	0	0
	P.mirabilis	1	1	1	0	0
	E.coli	1	1	1	0	0
	Pantoea sp	1	0	0	0	0
BGNnf	*A.baumannii*	14	25	14	0	0
	P.aeruginosa	0	2	0	3	2
		33	39	26	3	2

Certaines souches montrent une combinaison entre les deux mécanismes, observée chez *A. baumannii*, *E. cloacae*, *P. mirabilis* et *K. pneumoniae*. Les céphalosporinases à haut niveau sont présentes chez toutes les souches de *P. aeruginosa*, dont deux présentent une association avec les métallo-bêta-lactamases (MBL).

La figure 3.43 montre que parmi les BGN multirésistants isolés, les enzymes de résistance les plus fréquemment identifiées sont la sécrétion de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) et la métallo-bêta-lactamase (MBL)

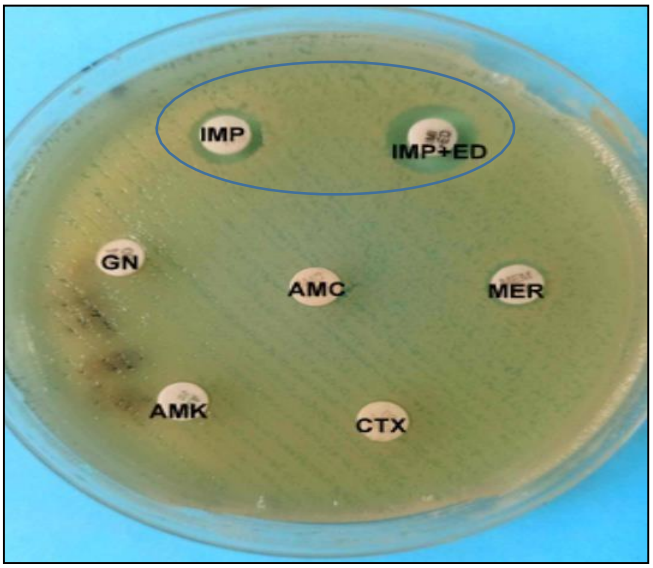

Figure 3.43 : Profil de résistance d'une souche de *K. pneumoniae* MBL+ isolées au niveau de la réanimation

Amoxicilline/acide clavulanique (AMC), Céfotaxime (CTX), Gentamicine (GN), Amikacine (AMK), Imipénème (IMP), Imipénème+ EDTA (IMP+ED), Méropénème (MER).

Les diverses surfaces et dispositifs médicaux montrent un taux de contamination considérablement élevé par ces souches multirésistantes, comme indiqué dans le tableau 3.22.

Tableau 3.22: Fréquence des BGN isolées à partir des différents sites au sein du service de réanimation.

Sites de prélèvement	BGN	BMR	Entérobactéries Multi-R	BGNnf Multi-R
Chaise roulante	1	1	0	1
Chariot de réanimation	4	3	1	2
Echographe	3	0	0	0
Fenêtre	1	0	0	0
Humidificateur	2	1	0	1
Interrupteurs	2	0	0	0
Laryngoscope	2	2	0	2
Lits	23	20	12	8
Masque	1	1	0	1
Murs	4	0	0	0
Orifice d'oxygène	2	0	0	0
Poignée de porte	2	1	1	0
Porte principale	1	1	0	1
Portes	1	0	0	0

Tableau 3.22: Fréquence des BGN isolées à partir des différents sites au sein du service de réanimation.

Potence	7	7	2	5
Respirateurs	2	1	0	1
Scope	5	2	1	1
Seringue électrique	4	2	0	2
Source vide	3	0	0	0
Table	6	3	2	1
Bocaux d'aspiration	2	2	0	2

Les taux de contamination sont liés à la capacité de formation de biofilm par diverses souches bactériennes, en particulier les bacilles à Gram négatif (BGN) multi-résistants. Une majorité de ces BGN multirésistants, soit 59,57% (28/47), présente un potentiel élevé de formation de biofilm.

Plus spécifiquement, parmi ces souches, 3/28 (10,71%) de *Pseudomonas aeruginosa*, 14/28 (50%) de *Acinetobacter baumannii*, 1/28 (3,57%) de *Proteus mirabilis* et 8/28 (30,76%) de *Klebsiella pneumoniae* montrent un fort potentiel de formation de biofilm (figure 3.44). Ces résultats suggèrent que la persistance de ces souches dans l'environnement peut être attribuée à leur capacité à former du biofilm, créant ainsi des conditions favorables à leur survie prolongée.

Figure 3.44 : Aspect des colonie de *P.mirabilis* sur milieu rouge Congo

L'analyse génétique des souches de *Acinetobacter baumannii (Aba1), et Proteus mirabilis* (*Prot 1*) isolées du lit, de la potence et du laryngoscope révèle la présence des gènes de résistance bla_{NDM} et $bla_{CTX\text{-}M}$. Ces deux gènes de résistance sont également détectés chez une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (*Pae1*) isolée des bocaux d'aspirations.

Dans le cadre de cette étude, des prélèvements cliniques ont été effectués pour évaluer la présence de souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes chez les patients admis en service de réanimation. L'objectif principal de ces prélèvements était de comparer les souches isolées des patients avec celles provenant de l'environnement hospitalier, afin d'identifier les sources potentielles de contamination et de mieux comprendre la dynamique de résistance (Appendice M).

3.9.1.2. Service de neurochirurgie

Sept espèces de bacilles à Gram négatif ont été isolées à partir de divers échantillons de surfaces et de dispositifs médicaux prélevés dans les blocs opératoires et post-opératoires. Parmi ces espèces, la grande majorité, appartiennent à la famille des *Enterobacteriacea*. La répartition des espèces résistantes identifiées est présentée dans le tableau 3.23.

Parmi les BGN isolés, 72,54% (37 sur 51) se révèlent être des souches multi-résistantes. Parmi ces souches multi-résistantes, 94,60% appartiennent aux entérobactéries, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* représente 5,41% de cette catégorie.

Klebsiella pneumoniae, avec 16 cas représentant 43,24%, et *Enterobacter cloacae*, avec 15 cas représentant 40,54%, émergent comme les espèces majoritairement multirésistantes.

Tableau 3.23 : Fréquence des BGN isolées au niveau du service de neurochirurgie

BGN	Espèces	Fréquence des Souches isolées	Fréquence des Souches multi-résistante
Entérobactéries	*K.pneumoniae*	22 (43,14%)	16(43,24%)
	E.cloacae	15 (29,41%)	15(40,54%)
	E.coli	2 (3,92%)	2(5,41%)
	C.freundii	2(3,92%)	0
	S.marcescens	2 (3,92%)	0
	P.mirabilis	4 (7,84%)	2(5,41%)
BGNnf	*P. aeruginosa*	4 (7,84%)	2(5,41%)
Total	*07 espèces*	51	37

Les souches appartenant aux entérobactéries et BGNnf multirésistantes, isolées de divers sites, présentent trois profils distincts de multirésistance, comme le montre le tableau 3.24.

Tableau 3.24 : Répartition des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de neurochirurgie selon les profils de résistance.

	Profil de résistance	**Profil de résistance**	**% (n)**
Profil I	AMC AK CF CIP CTX, ERT FOX GN IMP MER NA SXT	*K.pneumoniae*	16,22% (6)
		E.cloacae	8,11% (3)
	AMK CAZ GEN IMP LVX MEM PIP SXT TCC TIC TOB	*P. aeruginosa*	5,41% (2)
Profil II	AMC, AK,CF, CIP, CTX, FOX,GN, NA et SXT	*K.pneumoniae*	27,03% (10)
		E.cloacae	32,43% (12)
		E.coli	5,41% (2)
Profil III	AMC, AK,CF, CIP, CTX, ERT,FOX,GN,IMP,MER,NA, SXT,CS	*P.mirabilis*	5,41% (2)

Il est important de noter que la résistance aux antibiotiques est une préoccupation croissante dans le domaine médical et la gestion prudente de l'utilisation des antibiotiques est cruciale pour prévenir le développement de la résistance. L'ensemble des souches de *E. cloacae* se révèlent être résistantes à plusieurs antibiotiques, 12 expriment un profil de résistance incluant les médicaments AMC, AK, CF, CIP, CTX, FOX, GN, NA et SXT. De manière similaire, dix souches de *K. pneumoniae* présentent ce même profil de résistance. Quant aux souches de *P. mirabilis*, toutes montrent le profil de résistance "III". Ces données soulignent les défis significatifs liés à la résistance aux antibiotiques, soulignant ainsi l'importance d'une utilisation prudente et réfléchie de ces médicaments pour prévenir le développement de résistances.

La fréquence d'isolement des BGNnf est faible (4 souches), représenté exclusivement par les souches de *Pseudomonas aeruginosa* qui expriment uniquement le profil de multirésistance "I". Le tableau 3.25 détaille la distribution des divers mécanismes de résistance identifiés parmi les souches multirésistantes isolées.

Tableau 3.25 : Fréquence des BGN multirésistantes isolées au niveau du service de neurochirurgie selon les mécanismes de résistance.

Bactéries Gram négatives	Mécanisme de résistance / Espèce	BLSE	MBL	MBL+BLSE	CHN	CHN+MBL
Entérobactéries	*K.pneumoniae*	16	6	6	0	0
	E.cloacae	15	3	3	0	0
	P.mirabilis	2	2	2	0	0
	E.coli	2	0	0	0	0
BGNnf	*P. aeruginosa*	0	2	0	2	2
	4 espèces	35	13	11	2	2

Ces souches, comprenant la totalité des entérobactéries, présentent une sécrétion de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), ce qui en fait le mécanisme prédominant chez les bactéries à Gram négatif isolées au sein du service de neurochirurgie (voir figure 3.45). Ce mécanisme est également associé aux métallo-bêta-lactamases chez 11 bactéries multirésistantes isolées.

Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* (02) présentent une sécrétion de céphalosporinase à haut niveau, en association avec les métallo-bêta-lactamases (MBLs).

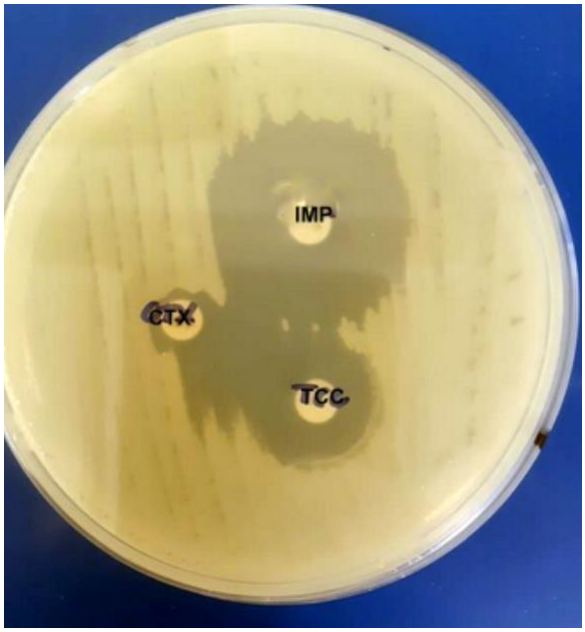

Figure 3.45 : *E. cloacae* BLSE+ isolée au niveau du service de Neurochirurgie
Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Céfotaxime (CTX), Imipénème (IMP).

Les diverses surfaces et dispositifs médicaux montrent un taux de contamination considérablement élevé par ces souches multirésistantes, comme indiqué dans le tableau 3.26.

Tableau 3.26 : Fréquence des BGN isolée à partir des différents sites au niveau du service de neurochirurgie.

Site de prélèvements	BGN	BMR	Entérobactéries Multi-R	BGNnf Multi-R
Bocal d'aspiration	7	6	6	0
Boites d'instruments	2	0	0	0
Chariot de réanimation	1	1	1	0
Point d'eau en commun des salles d'opérations	1	0	0	0
Lits	5	5	5	0
Tuyaux d'aspiration	8	4	4	0
Respirateur « bloc opératoire »	9	6	4	2
Respirateurs « post op»	8	5	5	0
Table opératoire	5	5	5	0
Tuyaux des respirateurs	5	5	5	0

La majorité de ces souches multirésistantes manifestent un potentiel élevé de persistance sur diverses surfaces, en lien avec leur aptitude à former des biofilms. Les bactéries multirésistantes présentent des niveaux variables de capacité à former des biofilms. Parmi elles, 12 souches de *K. pneumoniae*, 10 souches de *E. cloacae*, et deux souches de *P. aeruginosa* montrent une forte capacité d'adhésion, formant ainsi des biofilms bactériens sur diverses surfaces.

Les deux gènes bla_{NDM} et $bla_{CTX\text{-}M}$ ont été détectés dans les trois souches, à savoir *K. pneumoniae (Kn3), E. cloacae (E.clo n3) et P. mirabilis (Prot 5)*, isolées respectivement des bocaux d'aspiration, des respirateurs et des tables opératoires.

3.9.1.3. Service de traumatologie

Neuf souches de bactéries Gram-négatives (BGN) ont été isolés à partir de prélèvements effectués à la surface de dispositifs médicaux et dans les blocs opératoires. Parmi ces neuf espèces, sept appartiennent à la famille des entérobactéries (Tableau 3.27).

34 souches de bactéries BGN ont été isolées, parmi lesquelles 21 sont des souches multirésistantes. Neuf (9) souches appartiennent à la famille des entérobactéries tandis que les douze autres sont des BGNnf. *A. baumannii* est l'espèce la plus fréquemment isolée parmi les souches multirésistantes, représentant 10 cas.

Tableau 3.27 : Fréquence des BGN isolées au niveau du service de traumatologie

BGN	Espèces	Fréquence des Souches isolées	Fréquence des Souches multi-résistante
Entérobactéries	*K.pneumoniae*	6 (17,64%)	3 (14,28%)
	E.cloacae	5(14,70%)	3 (14,28%)
	E.coli	2 (5,88%)	2 (9,52%)
	C.freundii	1 (2,94%)	0
	S.marcescens	1 (2,94%)	0
	P.mirabilis	3 (8,82%)	1(4,76%)
	Pantoea spp	2 (5,88%)	0
BGNnf	*A.baumannii*	10 (29,41%)	10 (47,61%)
	P. aeruginosa	4 (11,76%)	2 (9,52%)
Total		34	21

Il est également noté que les entérobactéries et les BGNnf multirésistants expriment les trois profils de multirésistance, comme indiqué dans le tableau 3.28.

Tableau 3.28 : Répartition des BGN multirésistantes isolées au niveau du service de traumatologie selon les profils de résistance.

	Profil de résistance	**Profil de résistance**	**(n) %**
Profil I	AMC AK CF CIP CTX, ERT FOX GN IMP MER NA SXT	*K.pneumoniae*	(3) 14,28%
		E.coli	(1) 4,76%
	AMK CAZ GEN IMP LVX MEM PIP SXT TCC TIC TOB	*A.baumannii*	(4) 19,04%
		P. aeruginosa	(2) 9,52%
Profil II	AMC, AK,CF, CIP, CTX, FOX,GN, NA et SXT	*E.cloacae*	(3) 14,28%
		E.coli	(1) 4,76%
	CAZ GEN LVX TOB IMP MEM PIP SXT TCC TIC	*A.baumannii*	(3) 14,28%
Profil III	AMC, AK,CF, CIP, CTX, ERT,FOX,GN,IMP,MER,NA, SXT,CS	*P.mirabilis*	(1) 4,76%
	AMK CAZ GEN TOB IMP MEM PIP SXT TCC TIC	*A.baumannii*	(3) 14,28%

La totalité des souches de *K. pneumoniae* et une souche de *E. coli*, ainsi que *P. mirabilis* montrent respectivement un indice de multirésistance de 0,9 et 1 (Tableau 3.6, Figure 3.46). En revanche, les autres entérobactéries isolées, telles que *E. cloacae*, ainsi qu'une souche de *E. coli*, présentent le profil de résistance "II", indiquant une sensibilité aux carbapénèmes testés.

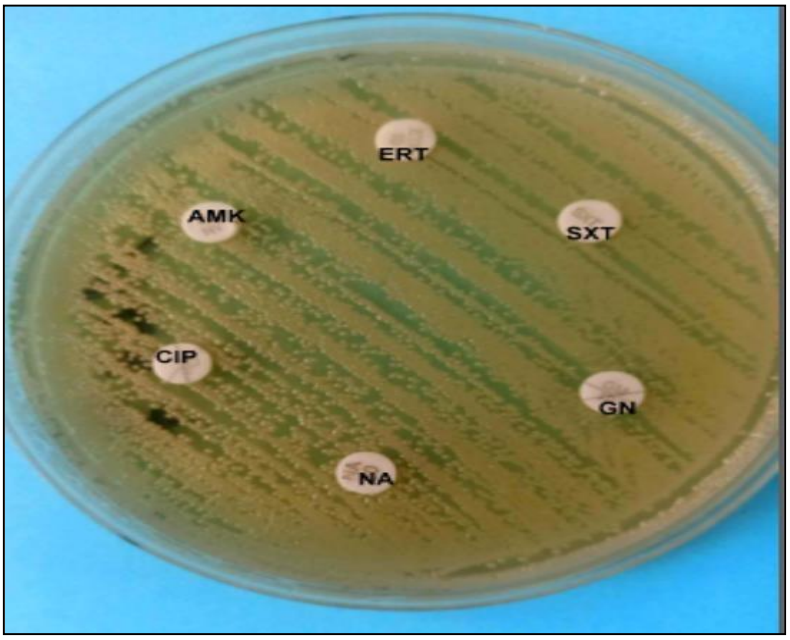

Figure3.46 : Profil de résistance de *P. mirabilis* isolées du service de traumatologie.

Ciprofloxacine (CIP), Céfotaxime (CTX), Gentamicine (GN), Amikacine (AMK), Imipénème (IMP), Imipénème+ EDTA(IMP+ED), Ertapenem (ERT) Méropénème (MER), Triméthoprime/Sulphaméthoxazole (SXT), acide nalidixique NA.

Ertapenem (ERT), Amikacine (AMK), acide nalidixique NA, Triméthoprime/Sulphaméthoxazole (SXT), Gentamicine (GN), Ciprofloxacine (CIP).

Les BGNnf affichent des taux de résistance élevés par rapport aux entérobactéries. Quatre souches de *A. baumannii*, et deux souches de *P. aeruginosa*, expriment le profil de résistance "I" avec un indice de résistance de 0,9.

Quant aux six souches de *A. baumannii*, elles sont réparties à parts égales entre les profils de résistance "II" et "III", présentant respectivement une sensibilité à l'amikacine et à la lévofloxacine.

Les résultats des tests complémentaires ont permis de mettre en évidence les mécanismes de résistance chez les 21 souches multirésistantes isolées, comme indiqué dans le Tableau 3.28.

Tableau 3.29 : Fréquence des BGN multi-résistantes isolées au niveau du service de traumatologie selon les mécanismes de résistance.

Bactéries Gram négatives	Mécanisme de résistance / Souches	BLSE	MBL	MBL+BLSE	CHN	CHN+MBL
Enterobacteriacea	***K. pneumoniae***	1	1	1	2	0
	E. cloacae	3	0	0	0	0
	P. mirabilis	1	1	1	0	0
	E. coli	2	1	1	0	0

BGNnf	***A. baumannii***	4	7	7	0	0
	P. aeruginosa	0	2	0	2	2
	6 espèces	11	12	10	4	2

Sept souches des entérobactéries et quatre d'*A.baumannii* sont des productrices d'enzymes à spectre étendu (EBLSE), tandis que deux souches d'entérobactéries sécrètent une céphalosporinase de haut niveau, un mécanisme identifié spécifiquement chez les *K. pneumoniae*. L'association entre les EBLSE et les métallo-bêta-lactamases (MBL) est observée chez 10 souches de bactéries Gram-multirésistantes.

Parmi les dix souches de *A. baumannii* résistantes aux carbapénèmes, sept sont sécrétrices de métallo-β-lactamase (Tableau 3.29 et figure 3.47).

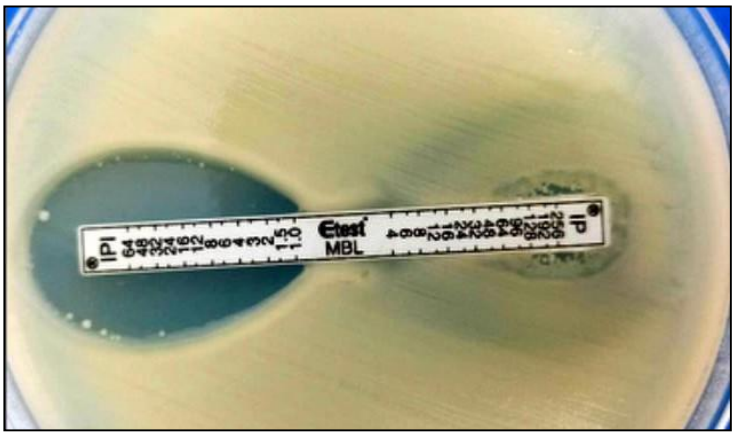

Figure3.47 : CMI E-test combiné IMP et IMP+ EDTA de *A. baumannii* isolée du service de traumatologie.

Les surfaces et les dispositifs médicaux présentent des contaminations élevées par les souches multi-résistantes (Tableau 3.30).

Tableau 3.30 : Fréquence des BGN isolées à partir des différents sites au niveau du service de traumatologie.

Site de prélèvements	BGN	BMR	Entérobactéries Multi-R	BGNnf Multi-R
Lits	10	6	3	3
Potence	5	3	1	2
Tables	4	2	1	1
Table malade	6	4	3	1
Bocaux tuyaux d'aspiration	5	2	0	2
Chariot de réanimation	2	2	0	2
Appareil d'anesthésie	1	1	0	1
Laverie arrière bloc	1	1	1	0

La majorité des bactéries Gram-négatives (BGN) multirésistantes isolées, soit 17, montrent un potentiel élevé de formation de biofilm, principalement observé chez dix souches de *A. baumannii* et deux *P. aeruginosa*. Ceci explique probablement les taux de contamination élevés dans l'environnement.

L'analyse génétique des souches *A. baumannii* (*Aba33*) non sécrétrices de métallo-β-lactamase, isolées des lits, des potences et des bocaux d'aspiration, révèle que ces souches portent les gènes de résistance $bla_{KPC.}$

3.9.4. Centre anti cancer : service hématologie

Au total cinq espèces entérobactéries sont isolées à partir de différentes surfaces et instruments *trois K. pneumoniae* et deux *Pantoea spp*.

Quatre souches présentent un profil de multi-sensibilité aux antibiotiques testés, à l'exception d'une souche de *K. pneumoniae,* Cette souche particulière est sensible uniquement aux carbapénèmes (ERT, IMP et MER), avec un indice de résistance de 0,6 (Tableau 3.7). Par conséquent, cette souche est considérée comme multirésistante, pourquoi d'après la figure c'est le contraire elle apparait plus tôt sensible exprimant le profil de résistance suivant : AMC, CTX, CF, CIP, AK, GN, NA et SXT (figure 3.48).

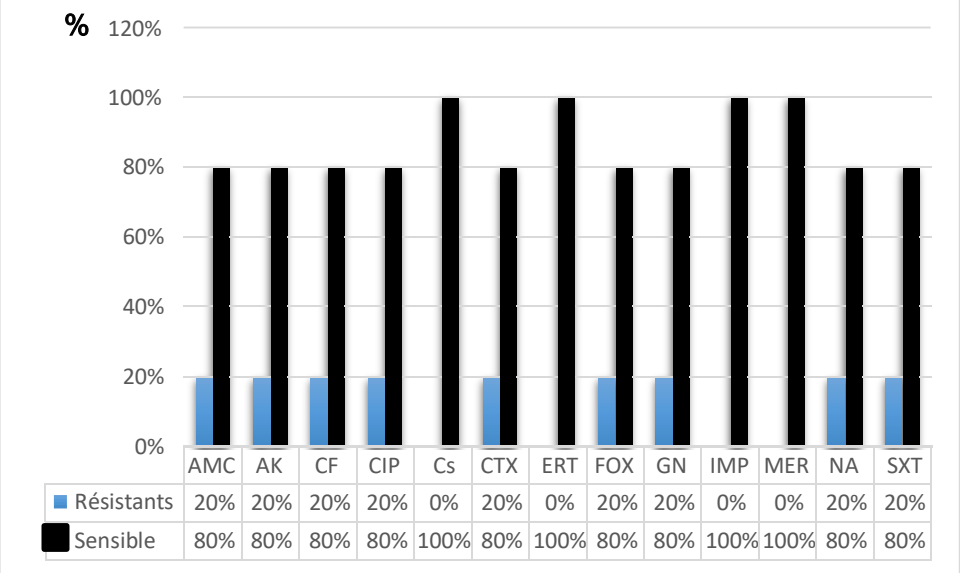

Figure 3.48 : Profil de résistance des entérobactéries isolées du service d'hématologie.

Les tests phénotypique et génotypique révèlent que cette souche (*Kcac1*) est sécrétrice de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE), comme indiqué dans la figure 3.49, par médiation du gène *bla*$_{CTX-M}$. Elle présente un potentiel élevé de formation de biofilm, comme le montre la figure 3.50.

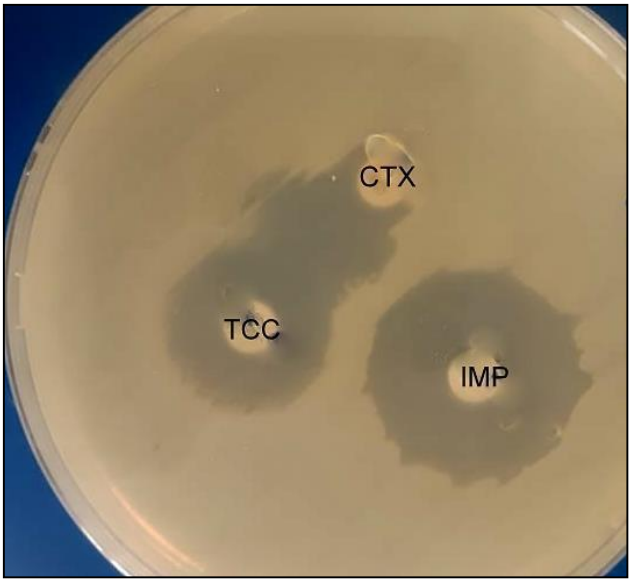

Figure 3.49 : Image de synergie entre CTX et TCC (bouchon de champagne) observé chez *K. pneumoniae* BLSE+ isolée au niveau de service traumatologie

Ticarcilline + acide clavulanique (TCC) , Céfotaxime (CTX), Imipénème (IMP), ceftazidime (CAZ)

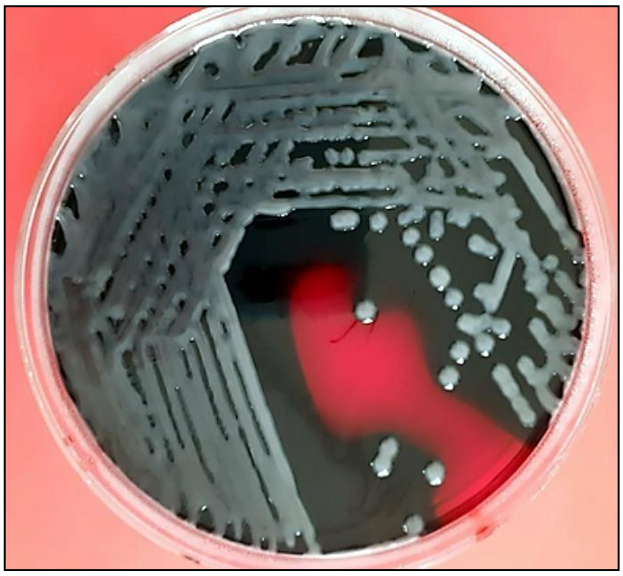

Figure 3.50 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* Biofilm+ sur milieu rouge Congo.

Cette souche est isolée à partir d'un seul site (table) (tableau 3.31).

Tableau 3.31 : Répartition des entérobactéries isolées à partir des différents sites au niveau de service d'hématologie

Sites de prélèvement	N (%)		Sites de prélèvement	N (%)	
	S	R		S	R
Lits			Portes	1 (20%)	0
Literies	0		Interrupteurs	1	0
Tables	0	1 (20%)	Support	1	0
Points d'eau	1 (20%)	0	Commande	0	0
Fenêtres	0	0	Source sous vide	0	0
Murs	0	0			

3.9.2. Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik « 2019 »

3.9.2.1. Service de néonatologie

Dix espèces de bactéries Gram négatives ont été isolées à partir de divers prélèvements de surface et de dispositifs médicaux, la majorité d'entre elles étant des entérobactéries. Le détail de la répartition des espèces résistantes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 3.32 : Fréquence des BGN isolées au niveau du service de néonatologie.

BGN	Espèces	Fréquence des Souches isolées	Fréquence des Souches multi-résistante
Entérobactéries	*K.pneumoniae*	7 (28%)	5(55,55 %)
	E.cloacae	1 (4%)	1(11,11 %)
	E.coli	1 (4%)	0%
	Pantoea spp	1(4%)	0%
	S.marcescens	1(4%)	0%
	H.alvei	5 (20%)	0%
	K. terrigena	3 (12%)	3(33,33%)
	S.plymuthica	2 (8%)	0%
BGNnf	*P. aeruginosa*	3 (12%)	0%
	A.baumannii	1 (4%)	0%
Total	*10 espèces*	25	9

Neuf des BGN isolées sont des souches résistantes, réparties entre *K. pneumoniae*, *K. terrigena* et *E. cloacae*. En revanche, le reste des souches isolées (16), montre une sensibilité à tous les antibiotiques testés, comme illustré dans la figure 3.51.

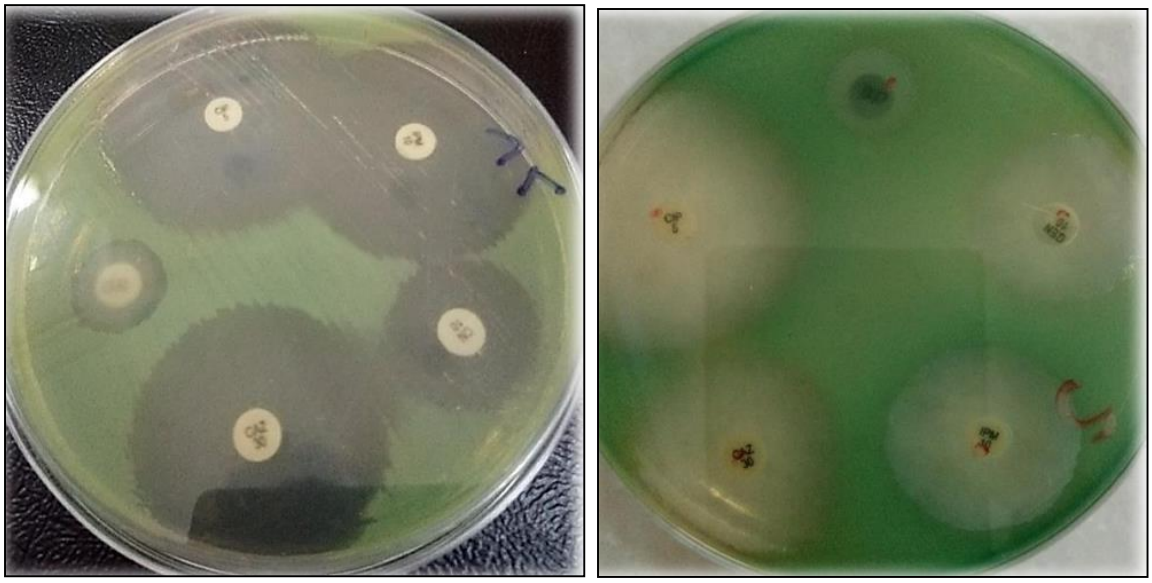

Figure3.51 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez *P. aeruginosa* sensible isolé du service néonatologie.

Amoxicilline/acide clavulanique (AMC) , Céfotaxime (CTX), Céfazoline (CZ) (, Imipénème (IMP), ceftazidime (CAZ)

Huit (8) souches montrent une résistance aux AMC, CF, CTX et FOX, présentant ainsi le profil de résistance "IV". L'indice de multirésistance est inférieur à 0,5, suggérant que ces souches ne présentent pas le caractère de la multirésistance. En revanche, *E. cloacae* est identifiée comme une souche productrice d'enzymes à spectre étendu (EBLSE), présentant une résistance à l'AMC, CTX, CF, CIP, AK, GN, NA et SXT, comme le montre la figure 3.52.

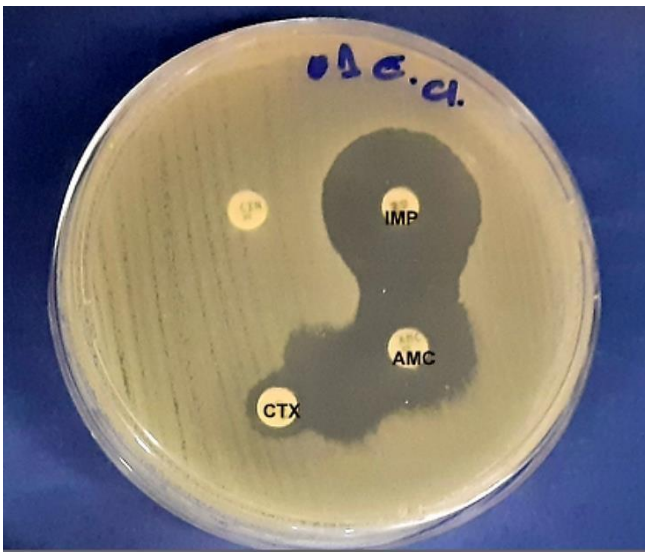

Figure 3.52 : Image de synergie entre CTX et AMC (bouchon de champagne) observé chez *E. cloacae* BLSE+ isolée au niveau de service néonatologie.

Amoxicilline/acide clavulanique (AMC) , Céfotaxime (CTX), Céfazoline (CZ) (, Imipénème (IMP)

Les souches résistantes sont isolées à partir de lits et de couveuses. Elles montrent une capacité de persistance de 100 %. Cinq souches, incluant trois *K. pneumoniae* et deux *K. terrigena*, parmi celles isolées, démontrent un potentiel élevé de formation de biofilm, comme le montre la figure 3.53. Cette résistance peut avoir des implications importantes en termes de choix d'antibiotiques pour le traitement, et cela peut nécessiter une attention particulière dans les protocoles de gestion des infections, surtout dans un environnement néonatal (Figure 3.54).

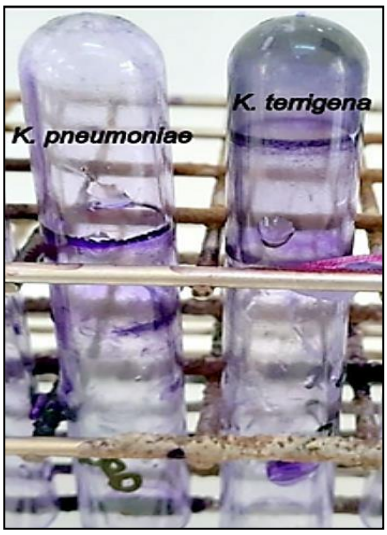

Figure 3.53 : Aspect du biofilm sur parois du tube par les souches de *K. pneumoniae* et *K. terrigena* isolées au niveau de service néonatologie

Figure 3.53 : Test à la cloxacilline positif chez *K.*pneumoniae isolée au niveau de service néonatologie

3.9.2.2. Service de gynécologie

Neuf espèces de BGN ont été isolées à partir de divers prélèvements de surfaces et de dispositifs médicaux. Le détail de la répartition des espèces résistantes sont présentés dans le tableau 3.33.

Tableau 3.33 : Fréquence des BGN isolées au niveau de service de gynécologie.

BGN	Espèces	Fréquence des Souches isolées	Fréquence des Souches multi-résistante
Enterobacteriaceae	*K.oxytoca*	1 (4,34%)	1 (11,11 %)
	K.pneumoniae	5(21,73%)	5(55,55 %)
	E.coli	1 (4,34%)	0%
	E.aerogenosa	2 (8,69%)	0%
	H.alvei	4(17,39%)	0%
	E.vulneris	1(4,34%)	0%
	K. terrigena	1(4,34%)	1(11,11 %)
BGNnf	*A.baumannii*	3 (13,04%)	2 (22,22 %)
	P. aeruginosa	5(21,73%)	0%
Total		23	9

Neuf des BGN isolées sont des souches résistantes. Parmi celles-ci, sept appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, notamment *K. oxytoca, K. terrigena,* et *K. pneumoniae*. Quatre de ces souches expriment le profil de résistance

"IV", et ce mécanisme a déjà été identifié chez les souches isolées du service de néonatologie.

Ces souches résistantes sécrètent la céphalosporinase à haut niveau, comme le montre la figure 3.55. De plus, trois souches de *K. pneumoniae* sont sécrétrices de bêta-lactamase à spectre étendu.

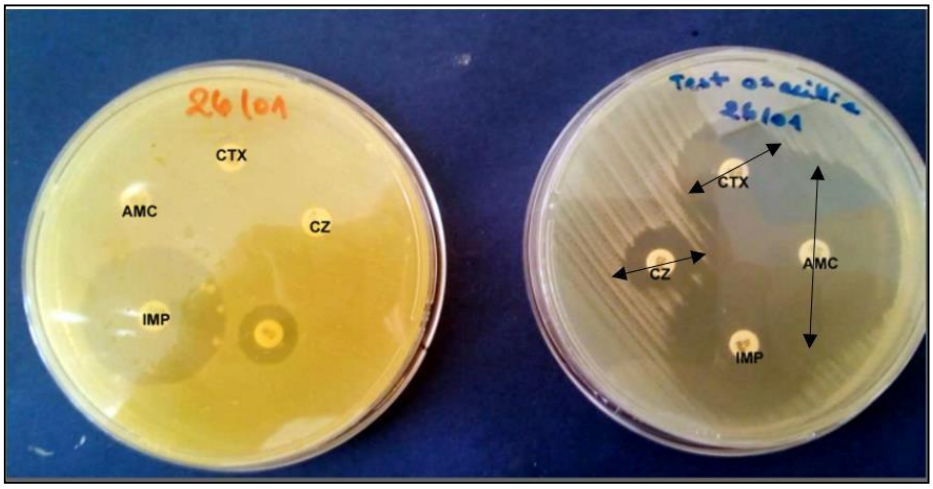

Figure 3.55 : *K. oxytoca* CHN+ isolée au niveau du service de gynécologie
Amoxicilline/acide clavulanique (AMC) , Céfotaxime (CTX), Céfazoline (CZ) (, Imipénème (IMP)

Deux souches de *Acinetobacter baumannii* isolées montrent une résistance aux AMK, CAZ, GEN, IMP, LVX, MEM, PIP, SXT, TCC, TIC et TOB, avec un indice de 0,9, les qualifiant ainsi de multirésistantes. Les tests complémentaires ont révélé une association entre la sécrétion de bêta-lactamase à spectre étendu et les métallo-β-lactamases chez ces souches.

La formation de biofilm, une structure microbienne complexe, peut avoir des implications significatives dans la persistance des infections et la résistance aux traitements (figure 3.56). Les souches de *Acinetobacter baumannii* sont uniquement isolées des lits. Tandis que les *Klebsiella*, présentant un profil similaire de résistance et de virulence, sont retrouvées sur les tables, les scopes et les poignées de portes.

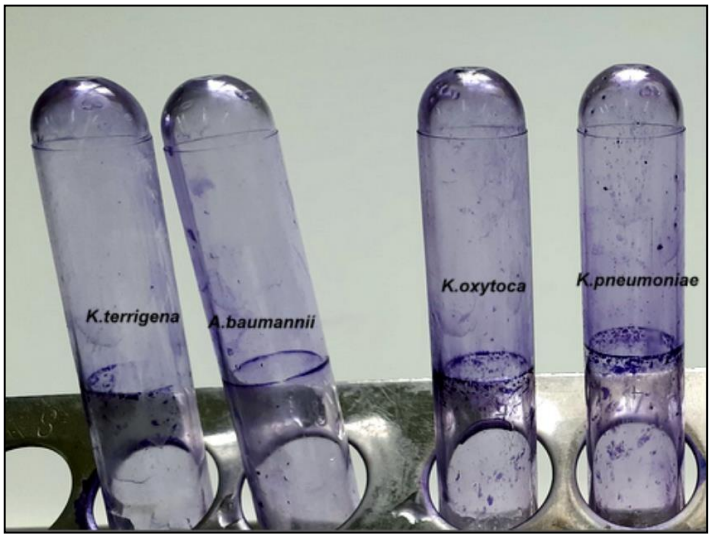

Figure3.56 : Aspect du biofilm sur tube formé par les BGN isolées du service de gynécologie.

3.9.3. Etablissement Public Hospitalier (EPH) Brahim Abdellah Tirichine « 2020 »

3.9.3.1. Médecine interne

Au sein des services de pneumologie et de diabétologie, quatre espèces bactériennes ont été identifiées au cours de la période d'étude. Les entérobactéries représentent la majorité, réparties respectivement entre les deux services (Tableau 3.34)

Tableau 3.34 : Fréquence des BGN isolées au niveau des services de diabétologie et pneumologie « Médecine interne ».

BGN	***E.coli***	***K. pneumoniae***	***E.cloacae***	***P.aeruginosa***
Diabétologie	7	0	0	3
Pneumologie	6	2	1	4
Fréquence des BGN isolées	13	2	1	7
Fréquence des BGN résistant isolées	5	0	1	0

Cinq des BGN isolées présentent le profil de résistance "IV" avec un indice de multirésistance inférieur à 0,5.

Concernant *E. coli*, deux souches sont identifiées comme entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE), présentant une interaction caractéristique liée à la sécrétion de ces enzymes. Parallèlement, la sécrétion de céphalosporinase à haut niveau est observée chez trois souches de *E. coli* et chez toutes les souches de *E. cloacae*.

La fréquence élevée d'isolement des souches de *E. coli* est associée à un fort potentiel de formation de biofilm, enregistré chez quatre souches. Ces bactéries présentent également une persistance notable sur diverses surfaces et dispositifs médicaux). Il ressort que les lits, les portes et les points d'eau sont les sites les plus fréquemment contaminés par ces bactéries résistantes (Tableau 3.35).

Tableau 3.35 : Répartition des BGN résistants des différents sites aux niveau des services de diabétologie et pneumologie « Médecine interne ».

BGN / **Site/service**	***E.coli***	***K. pneumoniae***	***E.cloacae***	***P.aeruginosa***
Services de diabétologie				
Lits	1	0	0	0
Point d'eau	1	0	0	0
Service de Pneumologie				
Lits	1	0	0	0
Point d'eau	2	0	0	2
Portes	0	1	0	0
Table	0	1	1	0

3.9.4. Etablissement Public Hospitalier Al-Affroun « 2022 »

3.9.4.1. Service gynécologie

Sept espèces de bactéries Gram-négatives ont été isolées à partir de divers prélèvements de surfaces et de dispositifs médicaux, parmi lesquelles cinq appartiennent à la famille des entérobactéries (Tableau 3.36).

Seize des souches de BGN isolés présentent une résistance multiple et appartiennent à *Enterobacter cloacae*, tandis que deux souches de *A. baumannii* sont également résistantes.

Tableau 3.36 : Fréquence des BGN isolées au niveau de service de gynécologie

BGN	Espèces	Fréquence des Souches isolées	Fréquence des Souches multi-résistante
Entérobactéries	*E.cloacae*	16 (57,14%)	16 (88,88%)
	P.mirabilis	2(7,14%)	0%
	S.ficasia	1 (3,57%)	0%
	Ewingella americana	1 (3,57%)	0%
	Cedecea lapagie	1 (3,57%)	0%
BGNnf	*A.baumannii*	2 (7,14%)	2 (11,11%)
	P. aeruginosa	5(17,85%)	0%
Total	*07 espèces*	28	18

Toutes les souches de *Enterobacter cloacae* présentent une résistance aux AMC, AK, CF, CIP, CTX, FOX, GN, NA et SXT, exprimant ainsi le profil de résistance "II", ce qui les qualifie de multirésistantes. De même, les souches de *Acinetobacter baumannii* présentent un profil de multirésistance (profil I) pour les antibiotiques testés, à savoir « AMK, CAZ, GEN, IMP, LVX, MEM, PIP, SXT, TCC, TIC et TOB ».

La sécrétion de bêta-lactamases à spectre étendu est le mécanisme de résistance prédominant chez les bactéries Gram-négatives isolées (Figure 3.57).

Figure 3.57: *E.cloacae* BLSE+ isolée au niveau du service de gynécologie
Céfotaxime (CTX)

Il semble que les souches de *Acinetobacter baumannii* isolées du même site (lit) présentent une résistance aux carbapénèmes. De plus, le test Carba NP est positif,

indiquant la production de carbapénèmase. Les tests d'EDTA et de témocilline sont négatifs, suggérant une absence de métallo-β-lactamase (MBL) et de AmpC.

L'analyse génétique indique que les souches(Aba40) (Aba41) partageant le même phénotype de résistance hébergent les gènes bla_{KPC}. Ces gènes sont associés à la résistance aux carbapénèmes (KPC), et leur présence expliquerait la résistance observée dans le phénotype.

Dix (10) souches de *Enterobacter cloacae* et toutes les souches de *Acinetobacter baumannii* présentent un fort potentiel de formation de biofilm (Figure 3.57). Ces bactéries sont principalement isolées des lits, des poignées de portes et des points d'eau. La capacité de ces souches à former des biofilms explique leur persistance sur différentes surfaces.

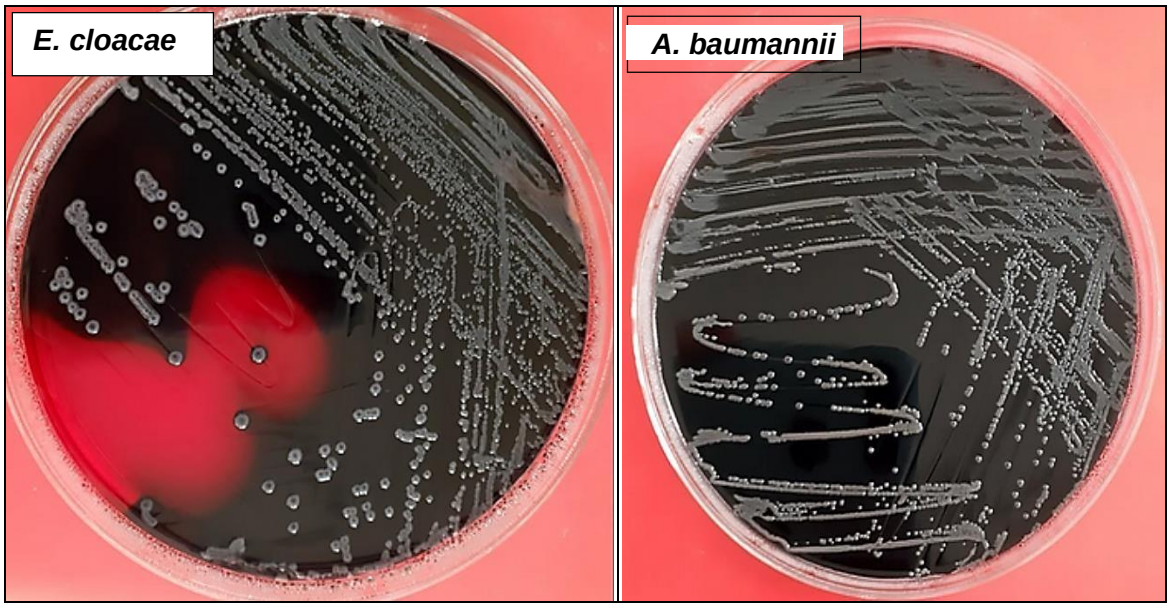

Figure3.57 : Aspect des colonies de *E. cloacae* et *A. baumannii* Biofilm+ sur milieu rouge Congo.

Discussion générale

L'environnement hospitalier constitue un milieu écologique important abritant des bactéries multirésistantes, pouvant servir de réservoir à l'origine de diverses infections. Des études ont confirmé que les infections nosocomiales dans les hôpitaux sont une source fréquente de souches multirésistantes [204].

Cette étude vise à apporter pour la première fois une meilleure connaissance sur le degré des contaminations microbiologiques au sein des établissements hospitaliers dans la wilaya de Blida

Dans le but d'estimer la fréquence de ces infections, de surveiller leur évolution au fil du temps et d'évaluer l'efficacité du programme de lutte contre les infections nosocomiales, Atif et al. [19] ont réalisé une enquête de prévalence annuelle de 2001 à 2005 au sein du centre hospitalier universitaire de Blida (CHU Frantz Fanon) portant sur l'ensemble de patients admis et hospitalisés depuis au moins 48 heures. Les résultats de cette enquête mettent en cause les bacilles Gram négatifs (77,2%), qui prédominent nettement dans l'apparition des infections nosocomiales.

Dans les différents établissements de santé étudiés, la surveillance microbiologique des diverses surfaces et dispositifs révèle un taux de contamination important de 69,80%, dépassant ainsi les 50%, notamment au sein des EPH Affroune (73,57%) et celui de Boufarik (70,83%). Les travaux de Chen et al. [205] ont également mis en évidence la contamination de l'environnement hospitalier avec une incidence de contamination de 63,5 %, en particulier dans les unités de soins intensifs médicaux, chirurgicaux et pédiatriques, soulignant un risque potentiel de contamination croisée.

Dans cette étude, les bactéries à Gram négatif ont été identifiées avec un taux de 59,51 (294 cas) différent de celui rapporté par Debabza (2015) [206], qui s'élevait à seulement 31,11%. Cette différence pourrait être attribuée à la méthode de prélèvement, car la technique d'écouvillonnage humide semble être plus efficace pour détecter les bacilles à Gram négatif [207].

Nous avons noté une fréquence d'isolement particulièrement élevée provenant des surfaces, atteignant un taux de 71,8%. Nos résultats sont similaires à l'étude de Amiyare et al. [208] où ils ont identifié que les sites les plus exposés à la contamination sont : les tuyaux d'aspirateur et de respiration, les bras de lit, les chariots, la table des

scopes, le réservoir d'aspiration, le support des scopes, le tuyau d'oxygène et le plateau en acier inoxydable. De même, les résultats de l'étude menée par Huslage et al. [209] ont mis en évidence une contamination bactérienne importants dans l'environnement proche des patients. Au total, 1 490 échantillons de surface ont été collectés, répartis entre les unités de soins intensifs (1 109, soit 74,4%) et les services médico-chirurgicaux (381, soit 25,6%). Dans les unités de soins intensifs, trois surfaces spécifiques (la barrière du lit, la surface du lit et le chariot de médicaments) ont été identifiées comme des surfaces à contact élevé. Ces surfaces étaient définies comme subissant plus de 3 contacts par interaction (avec un intervalle de confiance de 95% compris entre 2,17 et 13 contacts par interaction) en raison de l'interaction fréquente des professionnels de la santé avec ces éléments.

Peyclit et al. [210] ont collecté différentes études de prévalence portant sur les bactéries multirésistantes, isolées à partir de divers échantillons cliniques et environnementaux dans 19 pays du bassin méditerranéen, d'Afrique et du Moyen-Orient. Les résultats ont révélé que les genres bactériens les plus fréquemment isolés étaient les *Enterobacteriaceae*, avec une prédominance de *Klebsiella* et d'*Escherichia*, suivis par *Acinetobacter* et d'autres bactéries Gram négatif, incluant des genres tels que *Serratia, Salmonella, Enterobacter, Raoultella et Shewanella*, ainsi que *Pseudomonas.*

Le tableau 3.37 mettant en lumière les souches bactériennes les plus fréquemment identifiées.

Tableau 3.37 : Prévalence des bactéries Gram- multirésistantes isolées en Algérie [210]

Période d'étude	Souches isolées	Origine de prélèvement	Etude
2008-2011	*Klebsiella pneumoniae*	Clinique	[211]
2011	*Escherichia coli*	Clinique	[212]
2008-2012	*Klebsiella pneumoniae*	Clinique	[213]
2011-2013	*Acinetobacter baumannii*	Clinique	[214]
2014	*Klebsiella pneumoniae* *Enterobacter cloacae* *Acinetobacter baumannii* *Pseudomonas aeruginosa*	Clinique et environnement	[215]
2011-2013	*A. baumannii*	Environnement	[204]
2013-2015	*Acinetobacter baumannii*	Environnement	[216]
2010-2013	*Acinetobacter baumannii*	Clinique	[217]
2012-2014	*Klebsiella pneumoniae*	Environnement	[218]
2013-2015	*Klebsiella pneumoniae* *Pseudomonas aeruginosa* *Acinetobacter baumannii*	Clinique	[219]
2019	*Acinetobacter baumannii*	Clinique et environnement	[220]

Une récente étude menée par Sharma et al. [221] a révélé la présence de bactéries potentiellement pathogènes de type Gram négatif sur les poignées de porte des hôpitaux. Les bactéries Gram- isolées dans deux hôpitaux de la ville métropolitaine de Pokhara au Népal comprenaient notamment *Escherichia coli, Klebsiella spp, Pseudomonas spp, Acinetobacter spp, Enterobacter spp, Proteus spp et Citrobacter spp*. De manière similaire, Meunier et al. [222] ont également constaté et rapporté une contamination significative des surfaces hospitalières. Leurs observations ont révélé une contamination importante des dispositifs médicaux et des surfaces environnantes des patients, principalement par des bactéries présentant un potentiel pathogène.

Par ailleurs, les études menées par Baka et al. [223] et Addis et al. [224] corroborent nos résultats, mettant en évidence que la majorité des BGN ont été principalement isolés à partir des sites les plus contaminés, tels que les lits, la table opératoire, la potence, les chariots de médicaments, ainsi que les dispositifs médicaux tels que les respirateurs, les aspirateurs, les seringues électriques et les scopes. Dans cette étude, la contamination de ces sites, en particulier au niveau des blocs opératoires (neurochirurgie et traumatologie), peut exercer une influence significative sur le développement des infections associées au site opératoire, comme l'ont souligné Markogiannakis et al. (2008) dans leurs travaux [225].

Gelaw (2011) [226] a également montré que les infections postopératoires du site chirurgical à l'hôpital sont principalement dues à la contamination de l'équipement médical, des surfaces environnementales, de l'air et des mains du personnel de santé. Dans la présente étude, les entérobactéries représentent une fréquence d'isolement de 187 cas (63,61%), étant les plus fréquemment isolées dans tous les services étudiés, constituant la flore dominante dans le service de CAC hématologie (100%), ainsi que majoritairement dans les services de neurochirurgie (92,15%), pneumologie (71,42%), diabétologie (66,66%) et dans les services de néonatologie (EPH Boufarik) et de gynécologie de l'EPH Affroun.

La présence de taux élevés d'entérobactéries témoigne d'une contamination d'origine fécale et révèle des lacunes dans les pratiques d'hygiène, aussi bien du personnel que des patients [227].

Les *Enterobacteriaceae* sont principalement représentées par les espèces *Klebsiella pneumoniae*, 58 sur 294 cas (19,72%), *Enterobacter cloacae* avec 48 cas

sur 294 (16,32%), *Escherichia coli* avec 22 cas sur 294 (7,48%) et *Proteus mirabilis* avec 11 cas sur 294 (3,74%).

Nos résultats sont presque similaires à ceux obtenus par Liassine (2000) [228] qui a montré que les pathogènes à Gram négatif en milieu hospitalier appartiennent à différentes familles bactériennes représentées majoritairement par les entérobactéries (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae et Proteus mirabilis*). Dans cette étude, la souche de *K. pneumoniae* isolée du respirateur pourrait avoir une origine environnementale ou provenir d'un patient colonisé ou infecté. Il est possible qu'elle soit ultérieurement transmise à un autre patient affaibli par le biais de la réutilisation du respirateur contaminé comme l'ont déjà signalé Otter et al [229].

Les bactéries Gram négatif non fermentaires que nous avons identifié, présentent un taux d'isolement relativement moins élevé, s'élevant à 30,61% (90 sur 294) représenté par deux espèces :

- *Acinetobacter baumannii* (41 sur 90, soit 45,55%) est principalement isolée dans les services de réanimation (32,05 %) et de traumatologie (29,41%). Selon Beggs et al.[230], la présence de *A. baumannii* dans l'environnement hospitalier semble principalement résulter d'une contamination secondaire provenant d'un patient infecté. Cette bactérie est fréquemment détectée dans le voisinage immédiat du patient, incluant des surfaces telles que la barre de lit, les oreillers, les draps, les rideaux, le fauteuil et les tables de nuit. Actuellement, aucune étude systématique n'a été réalisée pour évaluer l'importance relative des divers facteurs environnementaux contribuant au maintien d'un environnement sain en salle opératoire. Toutefois, il est largement reconnu que la présence de fluides contaminés ou de matériel contaminé dans la salle d'opération peut conduire à la contamination des surfaces, accroissant ainsi le risque d'infections des plaies, comme indiqué par Nwankwo [231].

- *Pseudomonas aeruginosa* (35 sur 90, soit 38,88%) est isolée dans les services de Diabétologie (33,33%) et de Pneumologie (28,57%), ainsi que dans le service de gynécologie de l'EPH Al Affroune (15,62%).

Ces deux bactéries Gram négatif non fermentaires sont associées à des infections nosocomiales, notamment septiques, urinaires, pulmonaires et liées aux dispositifs

médicaux, et sont fréquemment détectées chez les patients immunodéprimés hospitalisés en réanimation [232].

Les résultats trouvés dans notre étude ont montré un isolement de plusieurs espèces bactériennes en raison de la nature polymicrobienne des prélèvements. Cela s'explique par ce qui a été rapporté par Kramer et al. [52]et David et al. [233], suggérant que de nombreuses espèces de bactéries Gram négatives telles que *Acinetobacter spp*., *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*., *Pseudomonas aeruginosa* peuvent survivre sur des surfaces inanimées pendant plusieurs mois, allant de 5 semaines à 30 mois.

El Ayne et al. [234] ont identifié que parmi les bactéries les plus fréquemment responsables d'infections nosocomiales isolées, on retrouve *Klebsiella pneumoniae* (17%), *Pseudomonas aeruginosa* (5%), *Enterobacter cloacae* (3%) et *Proteus vulgaris* (1%). Tandis que la répartition globale des germes par service a montré leur prédominance dans les unités de soins intensifs (30%), en traumatologie (11%), aux urgences (11%) et dans les salles d'opération (9%).

Une autre étude microbiologique des surfaces en milieu hospitalier réalisée à l'hôpital provincial de Sidi Kacem, au Maroc, a révélé que dix (10) espèces bactériennes ont été isolées, avec une prédominance de *Klebsiella pneumoniae* (13%). La répartition des souches isolées par service montre une prédominance des souches bactériennes dans le service des soins intensifs (19%) et le service des urgences (17%).

Des études menées par Andrianarivelo et al. [235] et Khouchoua et al. [236] ont confirmé la fréquence élevée des infections nosocomiales causées par des souches multirésistantes, particulièrement dans des services tels que la chirurgie, la médecine générale, la pédiatrie, les soins intensifs, la gynécologie obstétrique, les services des grands brûlés et les services de traumatologie. Ces domaines sont considérés comme des zones à haut risque, voire sévères. Flouchi et al. [237]se sont spécifiquement penchés sur la prévalence des infections du site opératoire dans les unités de soins chirurgicaux d'un centre hospitalier au Maroc. Leurs résultats ont révélé des taux de prévalence de 13,48% en 2018 et 12,19% en 2019 chez les patientes opérées, avec des variations notables entre les différentes unités de soins. En particulier, le service de gynécologie a affiché un taux de prévalence de 43% en 2018 et le service de chirurgie féminine a atteint 60% en 2019. Ces constatations soulignent la nécessité

d'une vigilance accrue dans ces secteurs à risque élevé au sein des établissements hospitaliers.

Des échantillons ont été prélevés à partir des surfaces et de l'air atmosphérique dans les unités de soins intensifs ainsi que dans les salles d'opération des services d'orthopédie et de gynécologie du centre médical public et de l'hôpital associé de Jammu, dans le nord de l'Inde. Les résultats ont montré que la majorité des prélèvements positifs provenaient des surfaces. Les bactéries à Gram négatif prédominantes étaient *Acinetobacter ssp, Klebsiella ssp et Pseudomonas ssp* [238].

La forte prévalence de la BGN multirésistantes signalée est due à plusieurs facteurs, notamment l'extrême vulnérabilité des patients, l'utilisation de médicaments immunosuppresseurs qui réduisent la résistance à l'infection, l'utilisation fréquente de dispositifs invasifs, l'hospitalisation prolongée et l'abus d'antibiotiques à large spectre prolongée et l'abus d'antibiotiques à large spectre [239] [240].

Dans la présente étude, l'analyse de l'antibiogramme a révélé que 148 souches sont résistantes aux différents antibiotiques testés avec une résistance particulièrement marquée chez les entérobactéries, notamment pour les bêtalactamines (100%), les aminosides, les quinolones et les sulfamides (59%). De plus, 25,49% des souches sont productrices de carbapénèmases. Les entérobactéries résistantes (100 sur 148) sont réparties entre les espèces telles que *K. pneumoniae, K. oxytoca E.cloacae, E.coli, P.mirabilis et Pantoae ssp*.

Une autre étude menée par Geetha dans un hôpital de soins intensifs, dans la région de Cuddalore, Tamil Nadu, Inde, a prélevé un total de 65 échantillons dans différentes zones de l'hôpital, incluant la salle d'opération, la chirurgie orthopédique, l'unité des plaies et des urgences, l'unité de soins intensifs, l'unité de dialyse, le service spécial, de mars 2022 à septembre 2022. Les souches isolées de cette étude ont montré une résistance multiple aux antibiotiques, avec 18% de souches multirésistantes (MDR), ainsi que 3% et 2% de XDR et PDR, respectivement. Toutes les surfaces étudiées dans l'hôpital présentaient une contamination bactérienne minimale [238].

L'étude menée par Chagas et al (2011) [241] a mis en évidence que la plupart des entérobactéries isolées de l'environnement hospitalier en particulier les effluents

hospitaliers ont montré une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, avec l'observation de sept profils de résistance différents.

De manière similaire, une étude portant sur la prévalence élevée des bactéries Gram négatives résistantes aux antibiotiques, responsables d'infections du site chirurgical dans un hôpital de soins tertiaires du Nord-Est de l'Inde, a révélé que plus des deux tiers des isolats étaient des bacilles Gram négatif (n=151,69,74%). *Escherichia coli* s'est avéré être l'isolat prédominant, représentant 22,37%, suivi de près par *Klebsiella spp*. à 20,61% [242].

Par ailleurs, une étude menée par Infectious Diseases Society of America a estimé que *Klebsiella spp.* et *E. coli* sont parmi les six agents pathogènes résistants aux médicaments pour lesquels des thérapies innovantes sont requises de toute urgence [243].

Dans notre étude, *A. baumannii* s'est révélé être multirésistant. Tous les isolats provenant de la réanimation et du service de traumatologie du CHU Frantz Fanon, ainsi que des salles d'accouchement de l'EPH Affroun et de Boufarik, présentaient une résistance aux antibiotiques couramment utilisés, tels que les aminoglycosides, les céphalosporines, les carbapénèmes et les quinolones. Une sensibilité réduite aux carbapénèmes (IMP et méropénem) a été particulièrement observée. Cette constatation rejoint les résultats de Bakour et al. [27] et Touati et al. [34] qui ont également signalé une fréquence élevée de *A. baumannii* résistant aux antibiotiques isolés à partir des surfaces hospitalières, d'environnements et d'échantillons cliniques dans un hôpital algérien.

De plus, en Grèce, Markogiannakis et al. [225] ont noté que les *A. baumannii* isolés à partir de prélèvements cliniques et de surfaces étaient résistants à la tobramycine, à la colistine, à la gentamicine et au méropénem, provoquant des épidémies de septicémie dans une unité de soins intensifs de traumatologie.

Benzaid et al. [23] ont réalisé une étude visant à identifier les diverses souches microbiennes présentes dans des échantillons biologiques prélevés chez des patients hospitalisés en réanimation à l'unité de soins intensifs du Centre Hospitalier Universitaire d'Annaba. L'objectif était d'évaluer la sensibilité aux antimicrobiens des souches isolées, de déterminer les facteurs de risque, ainsi que les genres bactériens les plus impliqués dans les infections nosocomiales. Les bactéries Gram négatif

retrouvées dans les échantillons comprenaient *Acinetobacter baumannii* (108 cas), *Klebsiella pneumoniae* (99 cas), *Pseudomonas aeruginosa* (79 cas) et *Escherichia coli* (73 cas). Les analyses de l'antibiogramme ont révélé une résistance très élevée aux antibiotiques, atteignant 93,75 % pour l'ampicilline. En revanche, une sensibilité à la colistine a été observée (81,81 %).

Dans la présente étude, le calcul de l'indice de multirésistance indique que la plupart des souches, soit 89,04% (130/146), sont qualifiées de multirésistantes, avec un indice de multirésistance (IMR) variant entre 0,72 et 0,9. Ceci est particulièrement prononcé chez les souches de *P. mirabilis*, qui présentent une résistance à la totalité des antibiotiques testés (IMR=1). Ces résultats sont similaires à d'autres études, notamment celle de Moges et al. [244], qui ont rapporté une résistance aux antibiotiques de 81,5% parmi les souches isolées de l'environnement hospitalier, avec une résistance à plus de cinq antibiotiques.

De même, l'étude d'Alam et al. [245] qui ont évalué les profils de résistance aux antibiotiques de 200 bactéries à Gram négatif isolées à partir des effluents de l'hôpital de la ville de Lucknow. Plus de 90% de résistance a été observée pour des antibiotiques tels que l'amoxicilline, la méthicilline, l'ampicilline, l'acide nalidixique et la pénicilline, selon les sites de prélèvement. Toutes les souches isolées présentaient également des profils de résistance multiple, couvrant de 2 à 13 antibiotiques dans différentes combinaisons. Les souches les plus résistantes aux antibiotiques parmi les bactéries à Gram négatif étaient *Enterobacter spp*. (12 antibiotiques), *Klebsiella spp*. (11 antibiotiques) et *Pseudomonas spp*. (10 antibiotiques).

Dans notre étude, 95,12% (39/41) des souches d'*A. baumannii* se sont révélées multirésistantes. Ces résultats concordent avec l'étude de Khorsi et al. [21], qui a évalué la capacité de résistance aux antibiotiques de *A. baumannii* dans cinq hôpitaux situés à Alger et qui ont trouvé des taux de résistance aux antibiotiques qui variaient de 93,6% à 98,3% pour les céphalosporines et 75,2% pour l'imipenème.

La fréquence élevée d'isolement des souches de *A. baumannii* multirésistantes (25 /39) au sein de l'unité de réanimation (CHU Frantz Fanon) présente une menace persistante. Ceci est corroboré par les conclusions de l'étude de Moghnieh et al. [246], qui ont rapporté un taux de 15,6% de *A. baumannii* multirésistant chez les patients

d'une unité de soins intensifs dans un centre de soins tertiaires libanais où *A. baumannii* multirésistant était responsable d'épidémies récurrentes.

La prévalence de *A. baumannii* et leurs mécanismes de résistance dans les quatre établissements hospitaliers à Blida montre des variations entre les différents établissements étudiés. Cela est en accord avec les résultats de Guo et al. et Shanghai (Chine) [247] qui ont également constaté une variation dans les profils de résistance de *A. baumannii*.

Dans notre étude, une fréquence élevée d'isolement de bacilles Gram négatif résistants a été observée dans plusieurs services, notamment en réanimation (26,53%) neurochirurgie (17,34%), traumatologie (11,56%) et gynécologie (10,88%). Au cours de la période 2012 à 2015 Zivanovic et al. [248], ont analysé la distribution et la résistance des souches multirésistantes de *K. pneumoniae* (14,1%) (8,9%), *P. aeruginosa* (11,6%) (5,3%) et *A. baumannii* (1,6%) (5%) dans les services chirurgicaux et médicaux respectivement, mettant en évidence une augmentation alarmante de la résistance, principalement dans les services de chirurgie.

Les β-lactames figurent parmi les antibiotiques les plus couramment utilisés et sont souvent présents dans les eaux usées. Ces antibiotiques peuvent induire la production de β-lactamases chez les entérobactéries [249]. Parmi ces β-lactamases, les bêta lactamases à spectre étendu (BLSE) sont parmi les mécanismes de résistance les plus répandus [240]. Nous avons rapporté que la majorité des entérobactéries multirésistantes (96,47%) sont des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), identifiées principalement chez les *E. cloacae*, suivies par les souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*.

Une étude similaire menée à Rio de Janeiro, au Brésil (2011) a révélé que les isolats multirésistants à spectre étendu producteurs de BLSE les plus courants dans les eaux usées des hôpitaux étaient *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae et E. coli* [241]. John et al. [250] 2019 ont conclu que l'incidence des infections à BLSE a augmenté de 53,3% (passant de 37,55 à 57,12 cas pour 10 000 hospitalisations). Les résultats de l'étude de Rozman et al. [251] ont indiqué des niveaux élevés d'entérobactéries productrices de BLSE isolées des effluents hospitaliers, atteignant jusqu'à 107 CFU/mL. Une autre étude sur la détection d'aérosols microbiens dans les services hospitaliers, avec identification moléculaire et diffusion de la résistance aux

antibiotiques de *Escherichia coli*, a révélé que *E. coli* isolée dans l'air était totalement résistante à l'ampicilline (AMP) et le principal gène de BLSE prédominant, y compris dans l'environnement hospitalier, était le gène bla_{CTX-M} [252]. Dans notre étude, les principaux producteurs de BLSE semblent être le résultat du transfert horizontal de gènes conférant la résistance aux antibiotiques, un processus optimisé par les facteurs de virulence de *K. pneumoniae*, comme déjà souligné dans les études menées par Khaertynov et al. (2018) [253].

En revanche, en ce qui concerne les BGNnf, ce mécanisme n'est observé que chez 28,94% des souches de *A. baumannii*. Ces résultats concordent avec ceux de Sinha et al.2007 [254] et Kaur et al., 2018[255] qui ont également signalé une production de BLSE avec un taux de 26,31% chez *A. baumannii*.

Une étude menée au service de traumatologie du centre médical Bugando à Mwanza entre janvier et mai 2020 a inclus la collecte d'échantillons rectaux/selles, des mains du personnel et des surfaces pour identifier les bactéries Gram-négatives productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). *Escherichia coli* et *Klebsiella spp.* étaient les plus isolées, tandis que *Acinetobacter spp.* était plus fréquent dans les échantillons environnementaux. Les patients présentant des fractures ouvertes avaient une probabilité plus élevée d'être colonisés par des souches sécrétrices de BLSE, en particulier dans les salles opératoires (95%),le sol sous les lits des patients était fréquemment contaminé. Cependant, pendant la pandémie du COVID, cette contamination environnementale avait diminué, suggérant l'efficacité des mesures préventives et de contrôle des infections mises en place en réponse à la pandémie de coronavirus 2019 (COVID-19) [256].

Dans notre étude, les souches de *P. aeruginosa* isolées ne sécrètent pas de bêta-lactamases à spectre élargi. En revanche, la céphalosporinase à haut niveau a été identifiée chez sept souches de *P. aeruginosa* multirésistantes. Ces souches présentent un taux de résistance de 100% pour les différentes familles d'antibiotiques testées. Nos résultats sont similaires à ceux de Drissi et al. [32], où le taux de sensibilité était le suivant : ticarcilline (56%), pipéracilline-tazobactam (81%), ceftazidime (88%), céfépime (80%), aztréonam (64%), imipénème (65%), amikacine (83%), tobramycine (81%) et ciprofloxacine (97%).

Selon Drissi et al [32], la résistance aux bêtalactamines était liée à la production de bêta-lactamases transférables (16%), à la surproduction de la céphalosporinase AmpC (12%) et/ou à des mécanismes non enzymatiques tels que la perte de la porine OprD (35%) et la surproduction du système d'efflux actif MexAB-OprM (24%).

16,89% des entérobactéries sécrètent une céphalosporinase à haut niveau, dont 16 souches appartenant au profil IV, considérées comme non multirésistantes (indice de multirésistance < 0,5). Il s'agit principalement de cinq souches *de E. coli* ainsi que deux souches de *K. pneumoniae* du profil "I" qui présentent un test de double disque négatif. Nos résultats se rapprochent de l'étude de Rakotovao-Ravahatra et al.,2017[257] où les entérobactéries isolées présentaient des résistances à l'amoxicilline avec un taux de 94,1% et à l'association amoxicilline-acide clavulanique avec un taux de 87,3%, qui étaient de loin les plus fréquentes. De plus, la résistance aux bêtalactamines par la sécrétion des céphalosporinases de haut niveau (CHN) était de 14,7% (n=15).

Les souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) sont souvent multirésistantes ou pan-résistantes, ce qui ne laisse que très peu de choix thérapeutiques pour traiter les infections les plus sévères. En outre, la co-occurrence de la carbapénémase avec d'autres déterminants résistants tels que la résistance aux aminoglycosides et aux quinolones est une source de préoccupation pour la santé mondiale.

Environ un quart des entérobactéries isolées dans cette étude présente une sécrétion de carbapénèmases, signalant ainsi une prévalence notable de ce mécanisme de résistance au sein de cette catégorie bactérienne. Parmi ces souches, 10/26 sont identifiées comme *K. pneumoniae*, 10/26 comme *E. cloacae,* 4/26 *P.mirabilis* et 2/26 comme *E. coli.* Nous avons constaté une prédominance totale de ce mécanisme de résistance, attribuée principalement à la sécrétion de métallo-β-lactamases. Ce mécanisme spécifique est détecté par un résultat positif au test de disque combiné à l'EDTA chez 25,49% (26/102) des entérobactéries et chez 89,13% (39/46) des BGNnf, comprenant 12,82% (5/39) *P. aeruginosa* et 87,17 % (34/39) de *A. baumannii* multirésistantes.

Sadhna et al. [258], Madhu et al. [259]et Behera et al. [260] ont signalé une production de métallo-β-lactamases (MBL) chez *P. aeruginosa* de 41 %, 61,5 % et

69,5 %, respectivement, des taux supérieurs à ceux observés dans cette étude. Nos résultats concordent avec ceux de Hodiwala et al.2013 [261] et Kabbaj et al.,2013 [262] qui ont rapporté une production très élevée de MBL chez *A. baumannii*, avec des taux respectifs de 96,6 % et 74 %. Ces variations pourraient être dues à des différences dans l'utilisation des antibiotiques dans leur environnement hospitalier.

Acinetobacter spp. présentait la plus forte prévalence de résistance aux carbapénèmes, tandis que *Pseudomonas* présentait la prévalence la plus basse. Selon Aletayeb et al. [263], l'une des principales causes de décès chez les nouveau-nés est la septicémie néonatale provoquée par des BGN résistants aux carbapénèmes. Le taux de mortalité chez les nourrissons infectés était de 89,3 %, comparé à 10,7 % chez ceux infectés par des bactéries sensibles aux carbapénèmes.

Plusieurs enquêtes menées par Bouguenoun et al. [215]; Chaalal et al. [216] et Mellouk et al. [219], ont démontré l'existence de bactéries Gram négatives avec des phénotypes de résistance similaires dans des établissements hospitaliers comparables. Les résultats de notre propre étude acquièrent une importance significative grâce à la confirmation des profils de résistance observés par des études antérieures et soulignent la nécessité d'approfondir notre compréhension de ces profils de résistance.

L'analyse génétique a révélé la présence du gène $bla_{CTX\text{-}M}$ dans la majorité des souches testées, en particulier chez les entérobactéries. Les résultats concordent avec ceux de Nogueira et al [264], qui ont également constaté une prévalence élevée de souches exprimant des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), en particulier chez *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter spp*. Le type prédominant de BLSE observé était CTX-M.

La métallo-β-lactamase de New Delhi (NDM) est une carbapénémase moléculaire transférable de classe B (zinc métallo-β-lactamase) qui a été initialement signalée en Suède en 2008 dans une souche de *Klebsiella pneumoniae* provenant d'un patient indien. Depuis lors, des carbapénèmases NDM ont été identifiées dans la plupart des régions du monde, en raison de la diffusion rapide du gène entre les membres des *Enterobacteriaceae* et *Acinetobacter spp*., isolés à la fois des prélèvements cliniques et de l'environnement. Dans la présente étude, le gène de

carbapénèmase le plus fréquemment identifié est *bla* $_{NDM}$ (41,17 %), une fréquence qui se rapproche de celle trouvée par Vamsi et al. [265] (47,3 %).

L'étude de White et al. [266] sur la prévalence des entérobactéries productrices de carbapénémases (CPE) dans les effluents hospitaliers a également rapporté la présence de la métallo-β-lactamase de New Delhi (NDM). Nous avons isolé trois souches porteuses du gène, principalement chez les souches de *P. mirabilis* provenant des services de traumatologie et de réanimation, ainsi que chez *K. pneumoniae* isolée du service de neurochirurgie. Nos résultats concordent également avec l'étude de Seman et al. [267], qui a observé la fréquence la plus élevée de production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de carbapénémase chez *K. pneumoniae*, respectivement 78,2 % (43/55) et 9,1 % (5/55). La majorité des souches isolées confirmées comme productrices de BLSE hébergeaient toutes au moins l'un des gènes de BLSE et la majorité d'entre elles étaient porteurs de plusieurs gènes de bêta-lactamase (84,3 %), le type bla_{CTX-M} étant le plus prédominant (67,3 %). De même, les huit isolats positifs pour la carbapénémase étaient tous porteurs de bla_{NDM}, mais aucun n'était porteur de bla_{KPC}.

La production de carbapénémase par des souches de *P. mirabilis* est particulièrement préoccupante, d'autant plus qu'elles présentent une résistance naturelle à la colistine. Cette situation restreint encore davantage les options thérapeutiques en cas de contamination croisée, comme l'ont souligné les travaux de Qin et al.[268].

Dans notre étude, le gène bla_{NDM}- a été identifié chez la majorité des souches de *A. baumannii* testées, provenant notamment des services de Réanimation, de Traumatologie et de Gynécologie. Ces résultats concordent avec une autre étude de Acolatse et al [269] qui ont évalué la présence et la prévalence de bactéries produisant des BLSE et des carbapénèmases en prélevant des échantillons sur des zones "très touchées" et "peu touchées" dans cinq services (Obstétrique et Gynécologie, Unité de Soins Intensifs Néonatals, Service Médical Féminin, Service des Accidents et Urgences, et Service Pédiatrique) de l'Hôpital Universitaire de Cape Coast, au Ghana. Cette recherche a révélé une prévalence élevée de *A. baumannii* porteur du gène bla_{NDM-1}, caractérisé par le séquençage du génome entier (WGS) et l'analyse phylogénétique pour déterminer les relations entre les souches résistantes trouvées dans les différents services.

Dans la présente étude, le gène *bla$_{NDM}$* a été identifié chez une seule souche de *Pseudomonas aeruginosa*. Nos résultats sont en accord avec une étude clinique menée par Tchakal-Mesbahi et al. [270], qui ont révélé que 59,57 % des souches de *P. aeruginosa* étaient phénotypiquement positives pour les BLSE, tandis que 100 % étaient phénotypiquement positives pour les MBL. 82,14 % étaient positives pour le gène *bla$_{CTX-M2}$*, 38,29 % pour le *bla$_{PER}$*, et 34,04 % pour le *bla$_{TEM}$*. De plus, 17,9 % des souches étaient porteuses des gènes *bla$_{CTX-M2}$*, *bla$_{TEM}$ et bla$_{PER}$*. Bien que les chercheurs aient examiné 47 souches pour les gènes *bla$_{NDM-1}$, bla$_{IMP}$ et bla$_{VIM}$* associés aux MBL, aucun de ces gènes n'a été détecté.

Une analyse génotypique des BGN provenant du Centre Hospitalo-Universitaire Mohamed Boudiaf à Ouargla [23], du Centre Hospitalo-Universitaire de Sétif [25] et de Skikda [26] , a mis en évidence la présence du gène de résistance *bla$_{NDM}$* au sein de souches isolées chez des patients hospitalisés.

La KPC a été détectée à l'échelle mondial dans des isolats d'entérobactéries et de *Pseudomonas aeruginosa* associés au transposon Tn4401, généralement situé dans les plasmides. *Acinetobacter baumannii* est devenu un important pathogène nosocomial multirésistant. La présence *de A. baumannii* produisant de la KPC n'a été signalée à ce jour qu'à Porto Rico [271]. Dans notre étude, l'enzyme KPC a été identifiée chez les souches présentant une résistance aux carbapénèmes et n'étant pas sécrétrices de métallo-β-lactamase. Ces souches ont été isolées des services de traumatologie et de gynécologie, ainsi qu'une souche de *P. aeruginosa* provenant du service de réanimation.

Les biofilms favorisent la circulation et la régénération des acides nucléiques en raison de la proximité et de la conservation prolongée des bactéries dans la matrice EPS. Ainsi, les variations constantes de l'environnement influencent la composition génétique des bactéries à travers divers mécanismes, tels que les mutations ponctuelles ou la recombinaison, qui altèrent le génome bactérien et constituent les premières étapes de la diversification génétique. Le matériel génétique est transmis à la fois par transmission verticale et par transfert horizontal, ce dernier pouvant transformer des bactéries initialement inoffensives en de redoutables pathogènes humains [272].

« ESKAPE » englobe un groupe de pathogènes nosocomiaux potentiellement mortels, à savoir *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa et Enterobacter spp*. Une étude récente a évalué la prévalence de ces bactéries ainsi que leur profil de résistance aux antibiotiques dans un hôpital, révélant un pourcentage élevé de résistance aux antibiotiques et une capacité importante de production de biofilms [273] [273]. Ces résultats concordent avec nos propres constatations, où nous avons observé que quasiment toutes les bactéries Gram négatif (94,59%) étudiées, dont 96, 07 % (98/102) des entérobactéries et 91,30% (42/46) des BGNnf, présentaient une aptitude à former des biofilms. Ces résultats sont similaires à une autre étude où la majorité des isolats (62,14% au total) se sont avérés être de grands producteurs de biofilms, tant dans les groupes multi-résistants que non multi-résistants. Toutefois, une autre recherche a noté l'absence de corrélation statistique entre la formation de biofilms et la résistance aux antimicrobiens, suggérant que la formation de biofilms n'est pas un facteur déterminant de la résistance [274].

Zeighami et al. [275] ont signalé les caractéristiques de virulence de *Acinetobacter spp*. isolés de patients en unité des soins intensifs, 91 % des isolats étaient XDR. D'après les rapports de la littérature récente, le taux de formation de biofilms chez *A. baumannii* est de l'ordre de 75 à 100 % [276].

L’un des aspects les plus critiques des biofilms formés par les bactéries pathogènes est le renforcement de la communication intercellulaire pour une expression coordonnée des gènes de virulence et pour l'activation de systèmes de transfert horizontal de gènes [277]. Par ailleurs, Selasi et al. [278] ont observé une corrélation positive entre la formation du biofilm et le niveau d'expression de divers facteurs de virulence pertinents, tels que les protéines de surface, les pili, et la production de poly-β-(1-6).

La formation de biofilms et la production de bêta-lactamases contribuent de manière synergique à la dissémination à grande échelle de souches de bacilles Gram-négatifs multirésistants. Ils sont responsables de la chronicité, de la persistance et de la propagation des infections qui entraînent une morbidité et une mortalité élevées, ce qui constitue une grave crise sanitaire [279]. Les résultats de notre analyse de corrélation multiple mettent en évidence une relation très significative entre le nombre

de gènes de résistance, la multirésistance et la capacité à former un biofilm chez les bactéries. La constatation selon laquelle un plus grand nombre de gènes de résistance est lié à une multirésistance accrue correspond à nos résultats, étant donné que les bactéries dotées d'une diversité de mécanismes de résistance démontrent une meilleure capacité à survivre à une variété d'antibiotiques. Cependant, l'observation selon laquelle la multirésistance est liée à une moindre capacité à former un biofilm suscite des interrogations. Généralement, la formation de biofilm est associée à une résistance accrue aux antibiotiques, car le biofilm fournit un abri protecteur aux bactéries contre les agents antimicrobiens.

Nos résultats corroborent les conclusions de l'étude de Donadu et al. [280] sur la comparaison de la capacité de formation de biofilms entre des souches de *A. baumannii* multirésistantes et non multirésistantes. L'analyse des associations individuelles entre la résistance aux antibiotiques et la propension au biofilm n'a pas révélé de différences significatives. Le test d'ANOVA n'a pas mis en évidence de différences significatives (p = 0,067) dans la production de biofilm entre les isolats résistants et non résistants aux antibiotiques. Cette observation suggère que la relation entre la multirésistance et la formation de biofilm est complexe, laissant entrevoir la possibilité d'autres facteurs influents.

Les travaux menés par Dumaru et al. 2019 [281] ont révélé que *Escherichia coli* (38 %) était la souche prédominante, suivie de *Acinetobacter spp*. (20 %), *Klebsiella spp*. (16 %) et *Pseudomonas spp*. (12 %) et que 197 (62,73 %) des isolats sont positifs pour la formation de biofilm,de plus, 84 (26,75 %) et 51 (16,24 %) ont été confirmés comme producteurs de BLSE et de MBL respectivement, une association significative a été observée entre la production de MBL et la formation de biofilms ($\chi 2$ = 10,20, valeur P= 0,002), tandis qu'aucune corrélation significative n'a été constatée entre la production de BLSE et la formation de biofilms ($\chi 2$ = 0,006, valeur P= 0,937). La plupart des souches productrices de biofilm et de MBL étaient multirésistantes.

Plusieurs chercheurs ont cherché à établir un lien génétique entre la capacité à former des biofilms et la résistance aux antimicrobiens chez *A. baumannii*. Dans l'étude d'Aziz et al [282], les isolats d'*A. baumannii* porteurs de la β-lactamase à spectre étendu bla_{PER-1} ont produit un biofilm significativement plus résistant que les bactéries dépourvues de gène. Leurs résultats ont montré que les isolats bla_{PER-1}-positifs adhéraient de manière plus efficace aux cellules épithéliales en conditions in

vitro. En revanche, les résultats trouvés pour *P. aeruginosa* par Gallant et al.[283] indiquaient que les souches portant et exprimant le gène de la β-lactamase bla_{TEM-1} présentaient une capacité restreinte à former des biofilms. Cette observation a été attribuée à la faible aptitude d'adhésion de ces souches.

La présence des BGN multirésistants dans l'environnement hospitalier représente une menace sérieuse pour la santé publique. Les analyses ont mis en évidence des profils de résistance aux antibiotiques, soulignant la nécessité d'une gestion prudente de l'utilisation d'antibiotiques pour prévenir le développement de résistances. En Algérie, plusieurs études ont été menées sur la caractérisation génotypique de ces pathogènes prioritaires, en se concentrant principalement sur les isolats cliniques (Voir tableau 3.40).

Tableau 3.38 : Répartition des β-lactamases identifiées chez les souches BGN cliniques isolée en Algérie.

Espèces concernées	Enzymes concernées	Lieux	Travaux
Klebsiella pneumoniae ; E. coli	CTX-M-15	Non précisé	[284]
Proteus mirabilis	CMY-12	Constantine	[285]
Escherichia coli, Enterobacter cloacae et Klebsiella pneumoniae	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Béjaia	[286]
Escherichia coli	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Alger	[27]
E. cloacae	CTX-M-15	Béjaia	[35]
Pseudomonas aeruginosa	TEM-110	Tlemcen	[32]
E. cloacae	CTX-M-3 ; CTX-M-15 ;	Alger ; Tizi-Ouzou	[287]
K. pneumoniae	CTX-M-3 ; CTX-M-15 ;	Alger	[29]
Escherichia coli ; E. cloacae ; Klebsiella pneumoniae ; Serratia marcescens ; Proteus mirabilis	CTX-M-15 ; SHV-12 ;	Alger	[31]
Acinetobacter baumannii	OXA-23	Non précisé	[288]
E. cloacae	CTX-M-15	Non précisé	[289]
Acinetobacter baumannii	OXA-58	Tlemcen	[290]
A. baumannii	OXA-23 ; OXA-24	Non précisé	[291]
A. baumannii	OXA-23 ; OXA-58	Annaba	[292]
A. baumannii	NDM-1	Oran	[30]
P. aeruginosa	VIM-2	Annaba	[293]
E. coli ; K. pneumoniae ; E. cloacae	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Tlemcen	[294].
Klebsiella sp. ; Enterobacter sp. ; Serratia sp	CTX-M-3 ; CTX-M-15	Annaba	[295]

Concernant la surveillance des bactéries multirésistante en milieu hospitalier, il existe des études de recherche en Algérie comme celle de Mesli et al [29], Touati et al [28], Baba Ahmed-Kazi Tani et al [21]. Cependant, ces études sont considérées

comme insuffisantes, étant donné l'importance potentielle du rôle de l'environnement hospitalier dans la transmission des infections. Ceci a été souligné dans les travaux menés par Gildas et al. [296], la comparaison des profils de résistance a révélé une forte similitude entre les souches isolées de l'environnement et celles issues de patients cliniques. Ces résultats suggèrent que l'environnement des unités de soins intensifs pourrait constituer un réservoir significatif de *A. baumannii* multirésistants, en particulier ceux produisant des métallo-bêta-lactamases (MBL) et représenter ainsi une source potentielle d'infections associées aux soins.

Autrefois, considéré principalement comme un lieu de convalescence, l'environnement hospitalier fait désormais l'objet d'une exploration approfondie en raison de son rôle important dans la transmission des infections nosocomiales. Actuellement, la communauté scientifique porte son attention vers l'environnement hospitalier en raison du potentiel significatif de la contamination croisée. Une étude menée au Ghana [297] sur des patients infectés par des bactéries à Gram négatif multirésistantes a révélé que le taux de colonisation rectale par ces bactéries était de 50,62 % à l'admission, diminuant à 44,44 % après 48 heures. Les prélèvements réalisés sur les mains du personnel soignant ont permis d'isoler des bactéries multirésistantes dans 6 cas (5,26 %) et sur les surfaces environnementales dans 24 cas (11,54 %). *Escherichia coli et Klebsiella pneumoniae* étaient les souches les plus fréquemment identifiées.

Des études se sont penchées sur la compréhension des mécanismes sous-jacents à la propagation des agents pathogènes dans ces hôpitaux, avec une attention particulière portée à la contamination croisée. Entre 2019 et 2020, deux épidémies successives impliquant des souches phénotypiquement identiques *d'Enterobacter cloacae* productrice de BLSE et de *Pseudomonas putida* multirésistants ont été identifiées chez respectivement 15 et 9 patients du service d'hématologie-oncologie. Les deux espèces bactériennes étaient résistantes à la pipéracilline-tazobactam, couramment utilisée dans le traitement des septicémies (neutropéniques), ainsi qu'à la ciprofloxacine, employée de manière prophylactique dans la décontamination digestive sélective des patients en hématologie. Des échantillons environnementaux d'éviers et de drains de douches se sont révélés positifs dans 18,1 % des cas. Au cours des deux épidémies, plusieurs souches de la bactérie incriminée ont été retrouvées simultanément (par polymorphisme de longueur de fragments amplifiés

et/ou par typage par séquençage multilocus du génome entier) chez les patients et dans l'environnement. Il a été démontré expérimentalement qu'un biofilm sur le rebord des toilettes peut constituer une source de transmission nosocomiale de bactéries Gram négatif [298].

Actuellement, la transmission inter-patients par le biais du personnel, du matériel médical et des surfaces environnementales suscite des préoccupations substantielles en raison de son potentiel à compromettre l'intégrité des soins de santé. Une étude récente de Odoyo et al. [299] avait pour but de caractériser les agents pathogènes ESKAPEE multirésistants contaminant les surfaces et dispositifs à fort contact dans cinq hôpitaux kenyans. Les services à haut risque comprenaient la chirurgie, les soins généraux, la maternité, les soins aux nouveau-nés et les soins pédiatriques. Les résultats de l'étude ont révélé que 12,6 % des surfaces étaient contaminées par des ESKAPEE multirésistants, avec *Acinetobacter baumannii* en tête, suivi de près par *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter, Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces bactéries étaient fréquemment isolées sur diverses surfaces et dispositifs situés dans les zones réservées aux patients, notamment la literie, les couveuses pour nouveau-nés, les lits d'enfant et les lavabos. Les résultats ont également indiqué que tous les services hospitaliers étaient contaminés par des ESKAPEE multirésistants, avec des fréquences élevées observées au niveau de la néonatologie, de la chirurgie et des maternités. Ces constatations soulignent l'importance de renforcer les mesures de contrôle des infections dans ces services spécifiques pour minimiser le risque de propagation des agents pathogènes multirésistants [164].

Par ailleurs, dans le cadre d'un programme de dépistage sur une période de six mois, l'étude menée par Sereia et al. en 2018[300] a révélé le profil de résistance aux antimicrobiens des BGN associés aux infections nosocomiales, isolés tant chez les patients que chez le personnel de santé et dans l'environnement hospitalier. Les prélèvements ont été effectués sur 180 sites répartis dans six unités hospitalières, à savoir le service des urgences, le service de médecine interne, le service de chirurgie, l'unité de chirurgie générale et l'unité de soins intensifs. Les résultats indiquent que 32,6 % des bactéries isolées ont été caractérisées comme multirésistantes, tandis que 38,7 % présentaient une résistance aux céphalosporines à haut niveau. Il est intéressant de noter qu'aucune différence significative n'a été observée dans la

répartition de ces résistances entre les patients, le personnel de santé et l'environnement hospitalier. Cette étude souligne la prévalence générale des profils de résistance étudiés au sein de l'ensemble des unités hospitalières, mettant en évidence l'importance d'une surveillance et de mesures de contrôle continues pour faire face à la menace des infections nosocomiales liées aux BGN résistantes aux antimicrobiens [301]. La résistance aux carbapénèmes a été détectée pour 17,7 % de toutes les souches isolées, étant plus élevée parmi les isolats de *Acinetobacter spp*. (36,5 %), suivis par les *Enterobacteriaceae* (14,5 %) et *Pseudomonas spp*. (11,8 %). À l'exception de l'unité de soins intensifs, qui a révélé des taux plus élevés de MDR, CARB-R et CHN-R, les profils de résistance des souches isolées ont été détectés de manière similaire dans les unités de l'hôpital. La prévalence des gènes de résistance aux β-lactamases de type bla_{KPC} et $bla_{CTX\text{-}M\text{-}1}$ était plus élevée dans le complexe *K. pneumoniae* et *E. cloacae*. Cette étude révèle que la propagation des bactéries multirésistantes dans un environnement hospitalier est plus importante que prévu, ce qui indique que le personnel de santé, les zones hospitalières et les équipements sont les principaux responsables dans la dissémination des bactéries Gram-négatives multirésistantes.

Les résultats de notre étude ont montré que les surfaces et les dispositifs médicaux des services étudiés sont colonisés par des agents pathogènes susceptibles de provoquer des infections nosocomiales. Ces dernières années, un certain nombre d'études [164] [301] ont démontré que les interventions de désinfection et de nettoyage de l'environnement pouvaient réduire la survenue des infections nosocomiales. Il est évident que la durée de survie de la bactérie dans l'environnement a une incidence sur le risque de propagation. Le temps correspondant dépend de plusieurs facteurs comme : le type de matériau de surface, l'espèce bactérienne et la charge biologique globale, la source d'isolement, le pH local, l'humidité relative de l'air, la température ambiante, et la formation du bioflm [302].Le tableau 3.41 synthétise les études sur la durée de survie des bactéries in vitro dans différentes conditions

Tableau 3.39 : Temps de survie des BGN sur les différentes surfaces.

Espèces	Nature de la Surface	Temps de survie	Référence
Acinetobacter baumannii	Verre	2->100 jours	[303] [304]
	Tissus	7-19 jours	[305]
	Matières plastiques	3->90 jours	[306]
	Acier inoxydable	12 jours	[305]
	Filtres à membrane en polycarbonate	>20 jours	[307]
Escherichia coli	Tissus	4h->8 semaine	[308]
	Matières plastiques	24h->300 jours	[309]
	Acier	14->60 jours	[310]
	Alliages de cuivre	60->360 min	[311]
	Verre	1–≥14 jours	[311]
	Filtres à membrane en polycarbonate	>6 jours	[307]
Klebsiella pneumoniae	Tissus	<1h-4 semaines	[312]
	Matières plastiques	9-32 jours	[308]
	Acier inoxydable	3-6 semaines	[313]
	Céramique/Matériau de revêtement de sol	2 semaines	[315]
Proteus mirabilis	Tissus	4h-9 jours	[308]
	Matières plastiques	<1-26 jours	[308]
Serratia marcensens	Tissus	<1 h-7 jours	[312]
	plastiques	1-10 jours	[308]
Pseudomonas aeruginosa	Tissus	1 h- >8 semaines	[314]
	Verre	5 h	[312]
	Matières plastiques	9 h-10 jours	[308]
	Acier inoxydable	5 days	[304]
	Matériaux de revêtement de sol	1 h->8 semaines	[313]

Dans notre étude, la fréquence élevée de contamination et la présence de micro-organismes d'origine humaine et environnementale sur les dispositifs médicaux et les surfaces pourraient être attribuées, d'une part, à l'inefficacité des désinfectants, et d'autre part, à une hygiène insuffisante et à des procédures de nettoyage inappropriées.

Les résultats obtenus dans cette étude soulignent l'importance de la surveillance de la résistance bactérienne dans les hôpitaux et mettent en évidence des facteurs environnementaux tels que les surfaces et les équipements médicaux dans la propagation de souches multirésistantes et la nécessité de renforcer les mesures de contrôle des infections pour minimiser la propagation de ces souches multirésistantes dans l'environnement hospitalier.

Conclusion et Perspectives

L'environnement hospitalier joue un rôle crucial dans l'apparition et la propagation des infections nosocomiales. La présence élevée de bactéries nosocomiales sur les équipements et les surfaces fréquemment en contact avec les patients est importante. Il est essentiel de souligner que le contact direct avec ces surfaces ou le matériel constitue le principal vecteur de transmission des infections nosocomiales. Ainsi, la contamination de ces zones revêt une importance centrale dans la transmission des infections aux patients. Les principaux agents pathogènes nosocomiaux ont été identifiés sur des surfaces inanimées, et ils peuvent se déplacer entre les patients hospitalisés, persistant et survivant dans l'environnement sur une période prolongée. Il est donc impératif de connaître les types de bactéries colonisant les surfaces inertes des établissements hospitaliers, ainsi que leur niveau de résistance aux antibiotiques.

Les bactéries nosocomiales à Gram négatif sont fréquemment associées à l'étiologie des infections nosocomiales. La présente étude a porté sur l'analyse de diverses souches bactériennes, mettant en lumière les profils de résistance aux antibiotiques et les mécanismes spécifiques de résistance ainsi que le niveau de contamination des diverses surfaces hospitalières et dispositifs médicaux dans quatre établissements de santé de la wilaya de Blida. Ces établissements comprennent les services de réanimation, neurochirurgie, traumatologie, centre anticancer (CHU Frantz Fanon), néonatologie et gynécologie (EPH Boufarik), diabétologie et pneumologie (EPH Brahim Trichine), ainsi que le service de gynécologie (EPH Al-Affroun). Selon les résultats des enquêtes de prévalence menées dans ces divers établissements hospitaliers, le taux de contamination s'élève à 69,80 % (594/851), avec une prédominance notable des surfaces en tant que sites affectés. L'identification des souches a permis de caractériser 294 souches de bactéries à Gram négatif, réparties en 16 genres et 25 espèces. Les entérobactéries représentent 63,61 % des isolats, tandis que les BGNnf comptent pour 30,61 %. Les espèces les plus prédominantes comprennent *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats indiquent que les sites les plus fortement contaminés sont les surfaces proches des patients, en particulier celles fréquemment touchées telles que les bords des lits, les lavabos, les

tables, les potences, ainsi que certains dispositifs médicaux tels que les scopes et les bocaux d'aspiration.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé que 49,65 % (148/294) des bactéries à Gram négatif sont résistantes, manifestant quatre profils de résistance, dont trois sont des profils de multirésistance, identifiés chez 83,33 % (85/102) des entérobactéries. Sur les 39 souches de *Acinetobacter baumannii* parmi les 41 isolées, 85 % présentent un profil de résistance. De même, parmi les 35 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, 7 présentent une résistance aux antibiotiques testés. Notamment, 10,81 % (16/148) des entérobactéries manifestent une résistance à une seule famille d'antibiotiques, en particulier aux bêtalactamines testées uniquement.

Dans cette étude, la caractérisation phénotypique des profils de résistance a révélé que la sécrétion des béta-lactamases à spectre étendu et les métallo-β-lactamase sont les phénotypes le plus identifiés chez les bactéries multi-résistantes isolée. Une sécrétion des céphalosporinases à haut niveau est notée chez 24,50% des entérobactéries résistantes et 100% des espèces de *P. aeruginosa* résistantes.

Il est également important de souligner qu'il existe des souches qui présentent une association entre les phénotypes de résistance, notamment entre les métallo-β-lactamases et les bêta-lactamases à spectre étendu/chloramphénicol. Par ailleurs, parmi les BGNnf, (8/46) présentent une résistance aux carbapénèmes sans toutefois produire de métallo-β-lactamases (test d'EDTA négatif).

La caractérisation de l'environnement génétique de ces phénotypes de résistance a été réalisée en recherchant les gènes de résistance bla_{CTX}, bla_{KPC} et bla_{NDM}. Les résultats ont révélé, pour la première fois, la présence de ces gènes de manière individuelle ou associée au sein de bactéries à Gram négatif isolées de l'environnement hospitalier dans la région de Blida.

Ces gènes se répandent particulièrement au niveau des sites très proches des patients, où la majorité des souches isolées présentent une forte capacité de formation de biofilm. Cela présente un risque potentiel de contamination croisée et pourrait contribuer à l'émergence de ces souches pathogènes chez les patients hospitalisés, en particulier ceux qui sont immunodéprimés et ceux admis dans des zones considérées comme critiques.

Les résultats de l'étude mettent en évidence le risque épidémiologique global lié à la présence de bactéries à Gram négatif sur les surfaces et les dispositifs médicaux au sein des établissements hospitaliers dans la wilaya de Blida. La similarité des profils de sensibilité aux antibiotiques et du potentiel de formation de biofilm entre les différentes souches isolées au sein d'un même établissement est préoccupante, suggérant une relation clonale

Il est essentiel et évident que le contrôle des surfaces hospitalières est indispensable pour lutter contre les infections nosocomiales, qui requièrent des procédures lourdes, complexes et coûteuses, nécessaires à une meilleure sécurité des patients.

En Algérie, le point vulnérable du système de santé réside dans la veille sanitaire, car dans le domaine de la santé, l'intervention tardive n'est pas permise. La création d'un institut de veille sanitaire serait donc essentielle pour collecter et mettre à disposition du ministre de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière les informations nécessaires issues de la surveillance et de l'observation de la santé de la population. Ces données sont cruciales pour élaborer et mettre en œuvre une politique nationale de santé efficace.

En conclusion, cette étude offre une compréhension approfondie des mécanismes de résistance chez différentes souches bactériennes, mettant en lumière la complexité et la diversité des profils de résistance aux antibiotiques. Les résultats obtenus méritent d'être poursuivis en développant les perspectives suivantes :

- Une analyse des profils génomiques en utilisant des approches génomiques avancées, telles que le séquençage à haut débit, pour obtenir des informations détaillées sur les profils génomiques des BGN et leurs implications dans les infections nosocomiales.
- Une analyse phylogénique en utilisant des techniques comme Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) ou la Multilocus Sequence Typing (MLST) pour étudier la diversité génétique des souches bactériennes. Cela permettra de comprendre les relations entre les différentes souches isolées et établir une cartographie des souches multirésistantes.

- Étude de la transmission croisée entre les patients, le personnel médical et l'environnement. Une telle analyse pourrait fournir des informations cruciales pour le contrôle des infections.
- Analyse de l'évolution temporelle des résistances : Cela pourrait révéler l'impact des pratiques médicales, des politiques d'antibiothérapie et d'autres facteurs sur la résistance bactérienne.
- Étude des facteurs environnementaux en explorant les facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité et la présence d'autres agents antimicrobiens dans l'environnement hospitalier. Ces facteurs pourraient influencer la survie des bactéries.
- Des collaborations interdisciplinaires avec des experts en épidémiologie, en microbiologie moléculaire et en santé publique pour obtenir une vision complète et élaborer des stratégies de gestion.
- Comparaison avec les données d'autres régions pour identifier les tendances régionales dans la diversité bactérienne et la résistance aux antibiotiques.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

[1] OMS. "Infections nosocomiales : le respect de l'hygiène des mains par les agents de santé protège les patients." 2014. World Health Organization, https://www.who.int/fr/news/item/02-05-2014-good-hand-hygiene-by-health-workers-protects-patients-from-drug-resistant-infections.

[2] CCLIN Sud-Ouest,« Entretien des locaux des établissements de soins » n°15567, 2005, 49 pages

[3] Suleyman, G., Alangaden, G., & Bardossy, A. C. "The Role of Environmental Contamination in the Transmission of Nosocomial Pathogens and Healthcare-Associated Infections." Current Infectious Disease Reports, vol. 20, no. 6, 2018, p. 12.

[4] Hormozi SF, Vasei N, Aminianfar M, Darvishi M, Saeedi AA. "Antibiotic Resistance in Patients Suffering from Nosocomial Infections in Besat Hospital." European Journal of Translational Myology, vol. 28, no. 3, 2018, p. 7594.

[5] Astagneau, P, and P Duneton. "Conduite à tenir devant une épidémie d'infections nosocomiales" [Management of epidemics of nosocomial infections]. *Pathologie-biologie* vol. 46,4 (1998): 272-8.

[6] Soussy, C., Cavallo, J., Chardon, H., Chidiac, C., Choutet, P., Courvalin, P., Dabernat, H., Drugeon, H., Dubreuil, L., et Goldstein, F. "Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie." Société Française de Microbiologie, Paris, France, 2007

[7] Martínez, J.L., & Baquero, F. "Emergence and spread of antibiotic resistance: setting a parameter space." Upsala Journal of Medical Sciences, vol. 119, no. 2, 2014, pp. 68-77.

[8] OMS. "Résistance aux antimicrobiens." 2020. World Health Organization, https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance.

[9] Mancuso, G., et al. "Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens." Pathogens, vol. 10, no. 10, 2021, p. 1310.

[10] Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, Du X, Liu X, Qiu S, Song H. "Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in Acinetobacter baumannii." Frontiers in Microbiology, vol. 7, 2016, article 483.

[11] Sulaiman, J. E., et H. Lam. "Evolution of Bacterial Tolerance Under Antibiotic Treatment and Its Implications on the Development of Resistance." Frontiers in Microbiology, vol. 12, 2021, article 617412.

[12] Nordmann, P. "Résistance aux Carbapénèmes chez les Bacilles à Gram Négatif." Médecine/Sciences, vol. 26, no. 11, 2010, pp. 950-959.

[13]Leverstein-van Hall, M. A., et al. "Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains." Clinical Microbiology and Infection, vol. 17, no. 6, 2011, pp. 873-880.

[14]Bush, K., & Bradford, P.A. "β-Lactams and β-Lactamase Inhibitors: An Overview." Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, vol. 10, no. 8, 2020, p. 247.

[15] Pitout, J. D., et al. "Antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from blood cultures in Alberta, Canada: 2000–2006." Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 60, no. 5, 2015, pp. 848-851.

[16] Mack, D., Becker, P., Chatterjee, I., Dobinsky, S., Knobloch, J. K. M., Peters, G., ... & Herrmann, M."Mechanisms of Biofilm Formation in Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus: Functional Molecules, Regulatory Circuits, and Adaptive Responses." International Journal of Medical Microbiology, vol. 294, no. 2-3, 2004, pp. 203-212.

[17] LEWIS, Kim. "Persister cells". Annual review of microbiology, 2010, vol. 64, p. 357-372.

[18] Smith, H. J., Zelaya, A. J., De León, K. B., Chakraborty, R., Elias, D. A., Hazen, T. C., ... & Fields, M. W. "Impact of hydrologic boundaries on microbial planktonic and biofilm communities in shallow terrestrial subsurface environments". FEMS microbiology ecology, 2018, vol. 94, no 12, p. fiy191.

[19] Michaelis, C., et E. Grohmann. "Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms." Antibiotics (Basel, Switzerland), vol. 12, no. 2, 2023, p. 328.

[20] Atif M.L., Bezzaoucha A., Mesbah S., Djellato S., Boubechou N., Bellouni R., « Evolution of nosocomial infection prevalence in an Algeria university hospital (2001 to 2005) »,Médecine et Maladies Infectieuses, 2006, V36, 423-8.

[21] Baba Ahmed-Kazi, T.Z., & Arlet, G. "News of antibiotic resistance among Gram-negative bacilli in Algeria." Pathologie Biologie, vol. 62, no. 3, 2014, pp. 169-178.

[22] Khorsi, K., Messai, Y., Hamidi, M., & Bakour, R. "High prevalence of multidrug-resistance in Acinetobacter baumannii and dissemination of carbapenemase-encoding genes bla OXA-23-like, bla OXA-24-like and bla NDM-1 in Algiers hospitals." Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, vol. 8, 2015, pp. 438-446

[23] Yagoubat, M., Ould El-Hadj-Khelil, A., Malki, A., Bakour, S., Touati, A., & Rolain, JM. "Genetic characterisation of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria isolated from the University Hospital Mohamed Boudiaf in Ouargla, southern Algeria." J Glob Antimicrob Resist, vol. 8, 2017, pp. 55-59.

[24] Benzaid, C., Tichati, L., Rouabhia, M., & Akil Dahdouh, S. "Prévalence des infections nosocomiales d'origine microbienne au service de réanimation du Centre hospitalo-universitaire de Annaba (Algérie)." Annales De Biologie Clinique, 2022.

[25] Nabti, L. Z., Sahli, F., Olowo-Okere, A., Benslama, A., Harrar, A., Lupande-Mwenebitu, D., ... Rolain, J. M. "Molecular characterization of clinical

carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates from Sétif, Algeria." Microbial Drug Resistance, vol. 28, no. 3, 2022, pp. 274-279.
[26] Labid, A., Benouagueni, S., Mehainaoui, A., Gacemi Kirane, D., & Touati, A. "Antimicrobial Resistance Among Gram-Negative Bacteria Isolated in the Newborn Intensive Care Unit at Abderrezak-Bouhara Hospital of Skikda, Algeria." Microbial Drug Resistance, vol. 29, no. 6, 2023, pp. 229-238.
[27] Ramdani-Bouguessa, N., Manageiro, V., Jones-Dias, D., Ferreira, E., Tazir, M., & Caniça, M. "Role of SHV β-lactamase Variants in Resistance of Clinical Klebsiella pneumoniae Strains to β-lactams in an Algerian Hospital." Journal of Medical Microbiology, vol. 60, no. Pt 7, 2011, p. 983**.**

[28] Touati, M., Diene, SM., Racherache, A., Dekhil, M., Djahoudi, A., & Rolain, JM. "Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates from University Hospital of Annaba, Algeria." Int J Antimicrob Agents, vol. 40, 2012, pp. 89-91.

[29] Messai, Y., Iabadene, H., Benhassine, T., Alouache, S., Tazir, M., Gautier, V., ... & Bakour, R. "Prevalence and characterization of extended-spectrum β-lactamases in Klebsiella pneumoniae in Algiers hospitals (Algeria)". Pathologie Biologie, 2008, vol. 56, no 5, p. 319-325.

[30] Boulanger, A., Naas, T., Fortineau, N., Figueiredo, S., & Nordmann, P. "NDM-1-producing Acinetobacter baumannii from Algeria." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, vol. 56, no 4, p. 2214.

[31] Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., & Arlet, G. "Prevalence of Plasmid-Mediated AmpC β-lactamases among Enterobacteriaceae in Algiers Hospitals." International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 34, no. 4, 2009, pp. 340-342.

[32] Drissi, M., Ahmed, Z.B., Dehecq, B., Bakour, R., Plésiat, P., & Hocquet, D. "Antibiotic susceptibility and mechanisms of beta-lactam resistance among clinical strains of Pseudomonas aeruginosa: first report in Algeria." Médecine et Maladies Infectieuses, vol. 38, no. 4, 2008, pp. 187-191.

[33] Berrazeg, M., Diene, S. M., Drissi, M., Kempf, M., Richet, H., Landraud, L., & Rolain, J. M."Biotyping of Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates from France and Algeria Using MALDI-TOF MS." PLoS One, vol. 8, no. 4, 2013, p. e61428.

[34] Mesli, E., Berrazeg, M., Drissi, M., Bekkhoucha, S.N., & Rolain, J.M. "Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo-beta-lactamase in Acinetobacter species, Algeria." International Journal of Infectious Diseases, vol. 17, 2013, pp. 739-743.

[35] Touati, A., Brasme, L., Benallaoua, S., Gharout, A., Madoux, J., & De Champs, C. "First Report of qnrB-producing Enterobacter cloacae and qnrA-producing Acinetobacter baumannii Recovered from Algerian Hospitals." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, vol. 60, no. 3, 2008, pp. 287-290.

[36] Ducel, G., Fabry, J., & Nicolle, L. "Prevention of Hospital-acquired Infections: A Practical Guide." 2nd ed., WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12, 2002.

[37]Thibault, V., Bara, J. L., Nefau, T., & Duplessy-Garson, C. "Hepatitis C Transmission in Injection Drug Users: Could Swabs Be the Main Culprit?" Journal of Infectious Diseases, vol. 204, no. 12, 2011, pp. 1839-1842.

[38] OMS. "Infections nosocomiales: le respect de l'hygiène des mains par les agents de santé protège les patients." 2014. World Health Organization, https://www.who.int/fr/news/item/02-05-2014-good-hand-hygiene-by-health-workers-protects-patients-from-drug-resistant-infections.

[39] François, D., B., Edouard, & M., Christian. "Bactériologie Médicale Technique Usuelles." Elsevier Masson, 2007, p. 274.

[40] Atif M.L., Sadaoui F., Bezzaoucha A., Kaddache C.A., Boukari R., Djelato S., Boubechou, N, « Reduction of nosocomial pneumonia using surveillance and targeted interventions in an Algerian neonatal intensive care unit », Infection Control and Hospital Epidemiology, 2009, V 30: 712-3

[41] Ammad, B. "Infections Nosocomiales (IN): Enquête de prévalence et d'identification des facteurs de risque dans un centre hospitalier universitaire de la région ouest d'Algérie." Thèse de doctorat, 2017, p. 173.

[42] Amazian, K., Rossello, J., Castella, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L., ... & Fabry, J., "Prévalence des Infections Nosocomiales dans 27 Hôpitaux de la Région Méditerranéenne." Eastern Mediterranean Health Journal, vol. 16, no. 10, 2010.

[43] Safdar, N., Crnich, C. J., & Maki, D. G. "Nosocomial Infections in the Intensive Care Unit Associated with Invasive Medical Devices." Current Infectious Disease Reports, vol. 3, no. 6, 2001, pp. 487–495.

[44] Horan, Teresa, Andrus, Mary, et Dudeck, Margaret. "Surveillance Definition of Health Care-Associated Infection and Criteria for Specific Types of Infections in the Acute Care Setting." American Journal of Infection Control, vol. 36, 2008, pp. 309-332

[45] CTIN, Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, 2002,DGS/DHOS.

[46] Berche, P., Gaillard, J. L., Simonet, M., & Simonet, M. Bactériologie: Bactéries des Infections Humaines. Flammarion, 1988, pp. 582-584.

[47] Conseil Supérieur de la Santé, « Recommandations en matière de prévention, maîtrise et prise en charge des patients porteurs de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (MDRO) dans les institutions de soins », Bruxelles: CSS, 2010.

[48] Bosi, C. « Analyse Bactériologique de l'Environnement Hospitalier ». Précis de Bactériologie Clinique. Ed. ESKA, Paris, 2000, pp. 408-437.

[49] Rutala, W. A., & Weber, D. J. "Infection Control: The Role of Disinfection and Sterilization." Journal of Hospital Infection, 1999, pp. 43-55.

[50] Lucet, J. C., & Astragneau, P. "Transmission des Infections Nosocomiales: Principe et Prévention." In: Infection Nosocomiales et Environnement Hospitalier. Flammarion, 1998, pp. 7-10.

[51] Emori, T. Grace, and Robert P. Gaynes. "An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory." Clinical microbiology reviews 6.4 (1993): 428-442.

[52] Kramer, Axel, et al. "How Long Do Nosocomial Pathogens Persist on Inanimate Surfaces? A Systematic Review." BMC Infectious Diseases, vol. 6, 2006, p. 130.

[53] Figarella J, Leyral G, Terret M. Microbiologie générale et appliquée. Collection Sciences et techniques biologiques. Editions Delagrave, 2007, 285p.

[54] Lemmen, S. W., Häfner, H., Zolldann, D., Stanzel, S., & Lütticken, R. "Distribution of Multi-Resistant Gram-Negative versus Gram-Positive Bacteria in the Hospital Inanimate Environment." Journal of Hospital Infection, vol. 56, no. 3, 2004, pp. 191-197.

[55] OMS. " Liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques." 2017. World Health Organization, https://www.who.int/fr/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed.

[56] Khayar, Y. "Comportement des Entérobactéries Isolées des Urines vis-à-vis de l'Amoxicilline-Acide Clavulanique, l'Imipeneme et l'Ertapeneme." Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, 2011, pp. 10-15.

[57] Bergey, Hendricks. Bergey's. "Manual of Determinative Bacteriology". Lippincott Williams & Wilkins, 1994.

[58] Perrière, G. "Application d'une Présentation par Objet des Connaissances de Modélisation de Certains Aspects de l'Expression des Gènes chez E. Coli UCBL." Thèse de Doctorat, Université de Claude Bernard - Lyon 1, 1992.

[59] Morice, V. "Chapitre 7 - Entérobactéries et Autres Bacilles à Gram Négatif Non Exigeants." 2003.

[60] Decoster. A, « Entérobactéries », FLM, (2005), p. 1-16.

[61] Avril Jl., Dabernat H., Denis F., Monteil H, « Bactériologie Clinique », Ed Ellipses, paris, 2ème édition , 2000, p171-177.

[62] Joly-Guillou, Marie-Laure, et Bergogne-Bérézin, E. "Les bactéries du genre Acinetobacter revisitées : leur importance actuelle." Antibiotiques, vol. 8, no. 2, 2006, pp. 93-94.

[63] Singh, B., Mortezaei, N., Savarino, S. J., Uhlin, B. E., Bullitt, E., & Andersson, M. "Antibodies Damage the Resilience of Fimbriae, Causing Them To Be Stiff and Tangled." Journal of Bacteriology, vol. 199, no. 1, 2016, article e00665-16.

[64] Keynan, Y., et Rubinstein, E. "The Changing Face of Klebsiella pneumoniae Infections in the Community." International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 30, 2007, pp. 385-389.

[65] Guiraud, J. P. "Microbiologie Alimentaire." ESKA, 1998, pp. 15-24.

[66] Fauchère, Jean-Louis., et Jean-Luc Avril. "Bactériologie Générale et Médicale." 15th edition, Masson, 2002, pp. 252-253; 151-176.

[67] Pantel, A. "Multirésistance des Entérobactéries aux Antibiotiques, Modulation de l'Influx et de l'Efflux Membranaires chez Escherichia Coli ST131." Thèse de Doctorat, Microbiologie, Université de Montpellier, 2015.

[68] Perrière, G. "Application d'une Présentation par Objet des Connaissances de Modélisation de Certains Aspects de l'Expression des Gènes chez E. Coli UCBL." Thèse de Doctorat, Université de Claude Bernard - Lyon 1, 1992.

[69] Delarras. C, « Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire », Lavoisier, Paris, 2007, 476 p.

[70] Carrer. A, Nord Mann. P, « Klebsiella pneumonie CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des B -lactamines à spectre étendu », Pathologie Biologie, 2009.

[71] Hart, C. "Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter and Serratia spp." Principles and Practice of Clinical Bacteriology, 2nd edition, John Wiley and Sons Ltd, England, 2006, p. 386.

[72] Fraser, S. I., Arnett, M., & Sinave, C. P. "Enterobacter Infections." Emedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and Disclosures, 2010.

[73] Minor, L., & Veron, M. "Bactériologie Médicale." 2e édition, Edition Flammarion Medical Science, Paris, 1989, pp. 312-459.

[74] Byrne. AH, Herra .CM, Aucken H, Keane .CT, « Rate of carriage of Serratia marcescens in patients with and without evidence of infection », Scand J Infect, 2001, Dis 33: 822826

[75] Christensen. GD, Korones. SB, Reed. L, Bulley .R, Laughlin. B, Bisno .AL, « Epidemic Serratia marcescens in a neonatal intensive care unit: importance of the gastrointestinal tract as a reservoir », Infect Control, 1982,V 3, 127-133.

[76] Abbott, S. L., « Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae », Manual of Clinical Microbiology, 9th édution, Washington USA: ASM Press, 2007, p698-711

[77] Pepperell, C., Kus, J., Gardam, M. A., & Burrows, L. "Low-Virulence Citrobacter Species Encode Resistance to Multiple Antimicrobials." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 46, no. 11, 2002, pp. 55-60.

[78] Ryan, K. J. "Enterobacteriaceae." Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases, 4th edition, McGraw-Hill, USA, 2004, p. 992.

[79] Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. "Microbiologie." De Boeck Université, 2nd edition, 1999.

[80] Dworkin, M., et al. "The Prokaryotes: Proteobacteria: Gamma Subclass." 3rd edition, Springer, 2006, p. 215.

[81] Denis. F, « Bactériologie médicale : techniques usuelles », Ploy MC Elsevier Masson, 2007,p 316-318.

[82] Berthelot. P, Grattard. F, Mallaval. F, Ros. A, Lucht. F, Pozzetto. B,« Épidémiologie des infections nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia et Stenotrophomonas maltophilia », Pathologie Biologie, V 53 n° 6, 2005, 341-348.

[83] Garrity, G., Brenner, DJ., Krieg, NR., & Staley, JR. (eds). "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria." Springer, 2005.

[84] Sabin, C., Mitchell, E. P., Pokorná, M., Gautier, C., Utille, J. P., Wimmerová, M., & Imberty, A. "Binding of Different Monosaccharides by Lectin PA-IIL from Pseudomonas aeruginosa: Thermodynamics Data Correlated with X-ray Structures." FEBS Letters, vol. 580, no. 3, 2006, pp. 982-987.

[85] Van Alst, N. E., Wellington, M., Clark, V. L., Haidaris, C. G., et Iglewski, B. H."Nitrite Reductase NirS is Required for Type III Secretion System Expression and Virulence in the Human Monocyte Cell Line THP-1 by Pseudomonas aeruginosa." Infection and Immunity, vol. 77, 2009, pp. 4446-4454.

[86] Pecastings, S. "Apport de Modèles de Biofilms à Pseudomonas Aeruginosa et Legionella Pneumophila à la Maîtrise de la Qualité Microbiologique des Réseaux d'Eaux Minérales." Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, France, 2010.

[87] Knirel, Yuriy A. "Polysaccharide Antigens of Pseudomonas aeruginosa." Critical Reviews in Microbiology, vol. 17, no. 4, 1990, pp. 273-304.

[88] Floret, N., Bertrand, X., Thouverez, M., & Talon, D. "Infections Nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa: Origine Exogène ou Endogène de la Bactérie Responsable?" Pathologie Biologie, vol. 57, no. 1, 2009, pp. 9-12.

[89] Lepape, A. "Epidemiology of Infections Due to Pseudomonas Aeruginosa." Ann Fr Anesth Reanim, vol. 22, no. 6, 2003, pp. 520-522.

[90] Richard, K. "Génomique Fonctionnelle In Vivo de l'Oxydoréductase PA3498 chez Pseudomonas Aeruginosa." Doctoral Dissertation, Université Laval, 2005.

[91] Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S., & Benade, S. "The Ecology, Biology and Pathogenesis of Acinetobacter spp.: An Overview." Microbes and Environments, vol. 26, no. 2, 2011, pp. 101-112.

[92] Denis. F, Martin. C, Cattoir. V, « Bactériologie médicale, techniques usuelles », Poly M.C.ELSEVIER MASSON, Cedex,2016, P346-347.

[93] Bouvet Philippe. JM, Joly Guillou ML, « Acinetobacter. Précis de Bactériologie clinique ». Virulence ,Paris ESKA: Braun G, 2008, p1239-1258

[94] Hawkey, P., Bergogne-Berezin, E. "Acinetobacter spp." Principles and Practice of Clinical Bacteriology, 2006, pp. 231-244.

[95] Asif, M., Alvi, I. A., & Rehman, S. U, « Insight into Acinetobacter baumannii: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. Infection and drug resistance », 2018,1249-1260.

[96] Ayoub Moubareck, C., et Hammoudi Halat, D. "Insights into Acinetobacter baumannii: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen." Antibiotics, vol. 9, no. 3, 2020, p. 119.

[97] Falagas, M. E., Mourtzoukou, E. G., Polemis, M., "Trends in Antimicrobial Resistance of Acinetobacter baumannii Clinical Isolates from Hospitalised Patients in Greece and Treatment Implications." Clinical Microbiology and Infection, vol. 13, no. 8, 2007, pp. 816-819.

[98] Joly-Guillou, Marie-Laure, et Bergogne-Bérézin, E. "Les bactéries du genre Acinetobacter revisitées : leur importance actuelle." Antibiotiques, vol. 8, no. 2, 2006, pp. 94-96.

[99] Drabick, J. A., et al. "Survival of Burkholderia cepacia on Environmental Surfaces." Journal of Hospital Infection, vol. 32, 1996, pp. 267-276.

[100] Henry, David A., Campbell, Mary E., Lipuma, John J., et Speert, David P. "Identification of Burkholderia cepacia Isolates from Patients with Cystic Fibrosis and Use of a Simple New Selective Medium." Journal of Clinical Microbiology, vol. 35, 1997, pp. 614-619.

[101]Sijam, Kamaruzaman, et A. Dikin. "Biochemical and Physiological Characterization of Burkholderia cepacia as Biological Control Agent." International Journal of Agricultural Biology, vol. 7, no. 3, 2005, pp. 385-388.

[102] Eyquem, A., et al. "Traité de Microbiologie Clinique: Deuxièmes Mises à Jour et Compléments." Piccin, 2000, 238p.

[103] Leitão, J. H., Sousa, S. A., Ferreira, A. S., Ramos, C. G., Silva, I. N., & Moreira, L. M. "Pathogenicity, Virulence Factors, and Strategies to Fight Against Burkholderia cepacia Complex Pathogens and Related Species." Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 87, 2010, pp. 31-40.

[104] Lavigne, J. P., Gaillard, J. B., Bourg, G., Tichit, C., Lecaillon, E., & Sotto, A. "Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Producing Stenotrophomonas Maltophilia Strains: CTX-M Enzymes Detection and Virulence Study." Pathologie-Biologie, vol. 56, no. 7-8, 2008, pp. 447-453.

[105] Niang, O. "Validation d'une Microméthode d'Identification des Bacilles à Gram Négatif Non Fermentaires." Thèse de Pharmacie, Dakar, 2003.

[106] Senol, E. "Stenotrophomonas Maltophilia: The Significance and Role as a Nosocomial Pathogen." The Journal of Hospital Infection, vol. 57, no. 1, 2004, pp. 1–7.

[107] Hentrich, Marcus, Schalk, Enrico, Schmidt-Hieber, Martin, Chaberny, Iris, Mousset, Sabine, Buchheidt, Dieter, ... & Karthaus, Meinolf. "Central Venous Catheter-Related Infections in Hematology and Oncology: 2012 Updated Guidelines on Diagnosis, Management and Prevention by the Infectious Diseases Working Party of the German Society of Hematology and Medical Oncology." Annals of Oncology, vol. 25, no. 5, 2014, pp. 936-947.

[108] Minkwitz, A., & Berg, G. "Comparison of Antifungal Activities and 16S Ribosomal DNA Sequences of Clinical and Environmental Isolates of Stenotrophomonas Maltophilia." Journal of Clinical Microbiology, vol. 39, no. 1, 2001, pp. 139-145.

[109] Hall-Stoodley, L., et al. "Bacterial Biofilms: From the Natural Environment to Infectious Diseases." Nature Reviews Microbiology, vol. 2, no. 2, 2004, pp. 95-108.

[110] Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Sari-Belkharroubi, K., & Boucherit. "Risque Infectieux Lié à la Formation des Biofilms Multi-Espèces (Candida-Bactéries) sur Cathéters Vasculaires Périphériques." Journal de Mycologie Médicale, 2017.

[111] Costerton, J. William. "Overview of microbial biofilms." Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 15.3 (1995): 137-140.

[112] Lebeaux, David, & Ghigo, Jean-Marc. "Management of Biofilm-Associated Infections: What Can We Expect from Recent Research on Biofilm Lifestyles?" Médecine Sciences : M/S, vol. 28, 2012, pp. 727-739.

[113] Roux, A., & Ghigo, J.M. "Les Biofilms Bactériens." Académie Vétérinaire de France, vol. 159, no. 3, 2006, pp. 261-268.

[114] Elhani, Dalila. "L'émergence de la résistance aux antibiotiques annonce-t-elle le retour des âges sombres." Annales de Biologie Clinique, vol. 69, no. 6, 2011, pp. 637-646.

[115] Gould, Kate. "Antibiotics: From Prehistory to the Present Day." The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 71, no. 3, 2016, pp. 572-575.

[116] Courvalin, P. L'antibiogramme. Bruxelles Paris: MPC Vigot, 1985. **Print.**

[117] Gauba, A., Rahman, K.M. Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. Antibiotics 2023, 12, 1590.

[118] Van Alst, N. E., Wellington, M., Clark, V. L., Haidaris, C. G., et Iglewski, B. H."Nitrite Reductase NirS is Required for Type III Secretion System Expression and Virulence in the Human Monocyte Cell Line THP-1 by Pseudomonas aeruginosa." Infection and Immunity, vol. 77, 2009, pp. 4446-4454.

[119] Bryskier, A. Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals. Première édition, 2005.

[120] Galimand, MP., Courvalin, P., & Lambert, T. "Plasmid-Mediated High-Level Resistance to Aminoglycosides in Enterobacteraiceae Due to 16S rRNA Methylation." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 47, 2003, p. 2565.

[121] Cocito. C, DiGimbattista. M, « Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique»,(1990).

[122] Poirel, L., Leviandier, C., & Nordmann, P. "Prevalence and Genetic Analysis of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants QnrA and QnrS in Enterobacteriaceae Isolates from a French University Hospital." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 50, no. 12, 2006, pp. 3992–3997.

[123] Merensa, A., & Servonneta, A. "Mécanismes et Épidémiologie de la Résistance aux Fluoroquinolones en 2010." Revue Francophone des Laboratoires, no. 422, 2010.

[124] Michel, B., Michel, L., & Hervé, A. "Médicaments-Antibiotiques." Traité de Chimie Thérapeutique Vol. 2, Cours de Pharmacologie, 3ème Édition, EL, 1994.

[125] Leclerc, H., Izard, D., Husson, M. O., Wattre, P., & Jakubezak, E. "Microbiologie Générale." Dion, 1983, p. 369.

[126] Tankovic, J. "Antibacterial Antibiotics. General Data on Mode of Action and Mechanisms of Resistance" Revue Pratique, vol. 50, 2000, pp. 425-432.

[127] Gaddy, JA., Actis, L. A. "Regulation of Acinetobacter baumannii Biofilm Formation." Future Microbiology, vol. 4, 2009, pp. 273–278.

[128] Poole, K. "Resistance to Beta-Lactam Antibiotics." Cell Mol Life Sci., vol. 61, no. 17, 2004, pp. 2200-2223.

[129] Frappier-Davignon, L., Frappier, A., & St-Pierre, J. "Staphylococcal Infection in Hospital Nurseries: Influence of Three Different Nursing Techniques." Journal of the Canadian Medical Association, vol. 81, 1959, pp. 531-536.

[130] Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., et al. "Multidrug-Resistant, Extensively Drug-Resistant and Pandrug-Resistant Bacteria: An International Expert Proposal for Interim Standard Definitions for Acquired Resistance." Clinical Microbiology and Infection, vol. 18, 2012, pp. 268-281.

[131] Versluys, S. B. B. "L'antibiorésistance dans les principales filières de production: enjeux, impacts et pertinence des mesures de lutte." Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVA, Faculté de Médecine de Créteil, 2019.

[132] Lozniewski, A., & Raboud, C. "Résistance Bactérienne aux Antibiotiques." CCLIN Sud-Est, juillet 2010.

[133] Fluit, AC., & Schmitz, F.-J. "Resistance Integrons and Super-Integrons." Clinical Microbiology and Infection, vol. 10, 2004, pp. 272–288.

[134] Bello-López, J. Manuel, Omar A. Cabrero-Martínez, Gabriela Ibáñez-Cervantes, Cecilia Hernández-Cortez, Leda I. Pelcastre-Rodríguez, Luis U. Gonzalez-Avila, and Graciela Castro-Escarpulli. "Horizontal Gene Transfer and Its Association with Antibiotic Resistance in the Genus Aeromonas spp." Microorganisms, vol. 7, no. 9, 2019, p. 363.

[135] Wright, G. D. "Bacterial Resistance to Antibiotics: Enzymatic Degradation and Modification." Advanced Drug Delivery Reviews, vol. 57, no. 10, 2005, pp. 1451-1470.

[136] Philippon, A., & Arlet, B. "Entérobactéries et 3-Lactamines: Phénotypes de Résistance Naturelle." Pathologie Biologie, vol. 60, 2012, pp. 112-126.

[137] Barrial. K, Scotet .J,. « Classification raisonnée des β-lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution »,Tigaud de bactériologie, 2006. p3-10.

[138] Ambler, R. P. "The Structure of β-Lactamases." Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, vol. 289, 1980, pp. 321-331.

[139] Falagas, M. E., et D. E. Karageorgopoulos. "Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Organisms." Journal of Hospital Infection, vol. 73, no. 4, 2009, pp. 345-354.

[140] Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. "A Functional Classification Scheme for Beta-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 39, no. 6, 1995, pp. 1211–1233.

[141] Spanu, T., Luzzaro, F., Perilli, M., Amicosante, G., Toniolo, A., et Fadda, G."Occurrence of Extended Spectrum β-Lactamases in Members of the Family Enterobacteriaceae in Italy: Implications for Resistance to β-Lactams and Other Antimicrobial Drugs." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 46, no. 1, 2002, pp. 196-202.

[142] Guardabassi, L., & Courvalin, P. "Modes of Antimicrobial Action and Mechanisms of Bacterial Resistance." In: Aarestrup, F. M. (Ed.), Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. ASM Press, Washington, 2006, pp. 1-18.

[143] Spratt, B. G., Q. Y. Zhang, D. M. Jones, A. Hutchison, J. A. Brannigan, et C. G. Dowson. "Recruitment of a Penicillin-binding Protein Gene from Neisseria flavescens during the Emergence of Penicillin Resistance in Neisseria meningitidis." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 86, no. 22, 1989, pp. 8988-92.

[144] Poole, K. "Efflux-Mediated Multi-Resistance in Gram-Negative Bacteria." Clinical Microbiology and Infection, vol. 10, 2003, pp. 12-26.

[145]Nauciel, Vildej-L. "Mécanismes de Résistance aux Antibiotiques." In Bactériologie Médicale, 2e Édition, Masson, Paris, 2005, pp. 59-64.

[146] Robin, F., Gibolda, L., & Bonnet, R. "Résistances Naturelles et Acquises aux 0-Lactamines chez les Entérobactéries: Comment les Identifier en Pratique Quotidienne?" Elsevier Masson SAS, 2012.

[147] Cavallo J.D, Fabre R, Jehi F, Rapp C, Garrabé E. « Béta-lactamines », EMC Maladies Infectieuses, 2004, 129-202.

[148] Vodovar, D., Marcadé, G., Raskine, L., Malissin, I., & Mégarbane, B. "Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention." La Revue de Médecine Interne, vol. 34, no. 11, 2013, pp. 687–693.

[149] Champs.C, Sauvant.M, Chanal.C, Sirot. D Gazuy. N, Malhuret. R, Baguet. J, Sirot. J, « Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-

spectrum-betalactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit ». J Clin Microbiol, 1989,2887-90.

[150] Jacoby, G. A., et L. S. Munoz-Price. "The New Beta-Lactamases." The New England Journal of Medicine, vol. 352, no. 4, 2005, pp. 380–391.

[151] Haidar, G., Clancy, C. J., Chen, L., Samanta, P., Shields, R. K., Kreiswirth, B. N., & Nguyen, M. H. "Identifying Spectra of Activity and Therapeutic Niches for Ceftazidime-Avibactam and Imipenem-Relebactam against Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 61, no. 9, 2017.

[152] Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., et Spencer, J. "β-Lactamases and β-lactamase Inhibitors in the 21st Century." Journal of Molecular Biology, vol. 431, no. 18, 2019, pp. 3472-3500.

[153] Nordmann, P., Jayol, A., Dobias, J., & Poirel, L. "Rapid Aminoglycoside NP Test for Rapid Detection of Multiple Aminoglycoside Resistance in Enterobacteriaceae." Journal of Clinical Microbiology, vol. 55, no. 4, 2017, pp. 1074-1079.

[154] Merensa, A., & Servonneta, A. "Mécanismes et Épidémiologie de la Résistance aux Fluoroquinolones en 2010." Revue Francophone des Laboratoires, no. 422, 2010.

[155] Rodríguez-Santiago, J., Cornejo-Juárez, P., Silva-Sánchez, J., & Garza-Ramos, U. "Polymyxin Resistance in Enterobacterales: Overview and Epidemiology in the Americas." International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 58, no. 5, 2021, p. 106426.

[156] Poole, K. "Resistance to β-Lactam Antibiotics." Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS), vol. 61, 2004, pp. 2200-2223.

[157] Lister, P., Wolter, D., & Hanson, N. "Antibacterial-Resistant Pseudomonas Aeruginosa: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms." Clinical Microbiology Reviews, vol. 22, no. 4, 2009, pp. 582-610.

[158] Nordmann, P. "Résistance aux Carbapénèmes chez les Bacilles à Gram Négatif." Médecine/Sciences, vol. 26, no. 11, 2010, pp. 950-959.

[159] Carpentier. JP, Morillon. M, Petrognani. R, Cavallo. JD, « Infections à bacille pyocyanique », Encycl Med Chir (Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses, 2003,8-025-B-50,23p.

[160] Vidaillac, C., Benichou, L., et Duval, R. E."In vitro Synergy of Colistin Combinations against Colistin-resistant Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, and Klebsiella pneumoniae Isolates." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 56, no. 9, 2012, pp. 4856-4861.

[161] Héritier, C., Poirel, L., Fournier, P. E., Claverie, J. M., Raoult, Didier, & Nordmann, Patrice. "Characterization of the Naturally Occurring Oxacillinase of Acinetobacter baumannii." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 49, no. 10, 2005, pp. 4174-4179.

[162] Rolain, JM., Parola, P., & Cornaglia, G. "New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM-1): Towards a New Pandemia?" Clinical Microbiology and Infection, vol. 16, 2010, pp. 1699-1701.

[163] Mugnier, P. D., Poirel, L., Naas, T., & Nordmann, P. "Worldwide Dissemination of the blaOXA-23 Carbapenemase Gene of Acinetobacter baumannii." Emerging Infectious Diseases, vol. 16, no. 1, 2010, p. 35.

[164] Joly-Guillou, Marie-Laure, et Bergogne-Bérézin, E. "Les bactéries du genre Acinetobacter revisitées : leur importance actuelle." Antibiotiques, vol. 8, no. 2, 2006, pp. 94-99 .

[165] Akers, K. S., Chaney, C., Barsoumian, A., Beckius, M., Zera, W., Yu, X., ... & Murray, C. K. "Aminoglycoside Resistance and Susceptibility Testing Errors in Acinetobacter baumannii-Calcoaceticus Complex." Journal of Clinical Microbiology, vol. 48, no. 4, 2010, pp. 1132-1138.

[166] McGowan Jr., John. "Resistance in Nonfermenting Gram-Negative Bacteria: Multidrug Resistance to the Maximum." American Journal of Infection Control, vol. 34, no. 5, 2006, pp. S29-S37.

[167] Falagas, M. E., Valkimadi, P. E., Huang, Y. T., Matthaiou, D. K., & Hsueh, P. R. "Therapeutic Options for Stenotrophomonas maltophilia Infections Beyond Co-trimoxazole: A Systematic Review." Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 62, no. 5, 2008, pp. 889-894.

[168] Liu, H., Tian, W. X., Ibrahim, M., Li, B., Zhang, G. Q., Zhu, B., & Xie, G. L. "Characterization of pilP, a Gene Required for Twitching Motility, Pathogenicity, and Biofilm Formation of Acidovorax avenae subsp. avenae RS-1." European Journal of Plant Pathology, vol. 134, 2012, pp. 551-560.

[169] McClean, K. H., Winson, M. K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S. R., Camara, M., ... & Williams, P. "Quorum Sensing and Chromobacterium violaceum: Exploitation of Violacein Production and Inhibition for the Detection of N-Acylhomoserine Lactones." Microbiology, vol. 143, no. 12, 1997, pp. 3703-3711.

[170] Da Re, S. "Antibiotiques et Réponse SOS Bactérienne - Une Voie Efficace d'Acquisition des Résistances aux Antibiotiques [Resistance Acquisition via the Bacterial SOS Response: The Inducive Role of Antibiotics]." Médecine Sciences, vol. 28, no. 2, 2012, pp. 179-184

[171] Prax, Marcel, et Ralph Bertram. "Metabolic Aspects of Bacterial Persisters." Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, vol. 4, 2014, p. 148.

[172] Amhis .W, Lhadj .M, Amrani.S, Badreddine.S, Chennit N. « Directives Nationales Relatives à l'Hygiène de l'Environnement dans les Établissements de Santé Publics et Privés ». 2015.

[173] POPI. "Maladies Infectieuses." CMIT, Paris, 2003, pp. 185-224.

[174] Gambotti, L., Raphaële, G., & Fabry, J. "Établir un Programme de Surveillance des Infections en Hospitalisation à Domicile." HygièneS, vol. IX, no. 1, 2001, pp. 31-37.

[175] Raoofi, S., Pashazadeh Kan, F., Rafiei, S., Hosseinipalangi, Z., Noorani Mejareh, Z., Khani, S., Abdollahi, B., Seyghalani Talab, F., Sanaei, M., Zarabi, F., Dolati, Y., Ahmadi, N., Raoofi, N., Sarhadi, Y., Masoumi, M., Sadat Hosseini, B., Vali, N., Gholamali, N., Asadi, S., Ahmadi, S., … Ghashghaee, A. "Global Prevalence of Nosocomial Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis." PloS One, vol. 18, no. 1, 2023, article e0274248.

[176] Boyce.J, Pittet. D, « Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force », Infection Control & Hospital Epidemiology, 2002, 23(S12), S3-S40.

[177] Goldberg, M., Coeuret-Pellicer, M., Ribet, C., & Zins, M. "Cohortes épidémiologiques et bases de données d'origine administrative-Un rapprochement potentiellement fructueux." Médecine/Sciences, vol. 28, no. 4, 2012, pp. 430-434.

[178] Davies, D. "Understanding Biofilm Resistance to Antibacterial Agents." Nature Reviews Drug Discovery, vol. 2, 2003, pp. 114–122.

[179] CCLIN Sud-Ouest. « Entretien des Locaux des Établissements de Soins ». 2005, 49 pages, NosoBase n°15567.

[180] Salo, S., Laine, A., Alanko, T., Sjöberg, A. M., & Wirtanen, G. "Validation of the Microbiological Methods Hygicult Dipslide, Contact Plate, and Swabbing in Surface Hygiene Control: A Nordic Collaborative Study." Journal of AOAC International, vol. 83, no. 6, 2000, pp. 1357–1365.

[181] Larpent-Gourgaud, Monique, Jean-Paul Larpent. « Manuel Pratique de Microbiologie ». Hermann, 1997.

[182] Clinical and Laboratory Standards Institute. « Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ». 30th ed., CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2020.

[183] Rahal, K. « Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'O.M.S », I.N.S.P. Algérie, 2011.

[184] Rahal, K. « Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'O.M.S », I.N.S.P. Algérie, 2020.

[185] Matthew P, Muller MD. "Résistance des bactéries Gram-négatif due aux bêtalactamases." Maladies infectieuses et Microbiologie, vol. 3, no. 6, 2004, pp. 15-23.

[186] Rahal, K. « Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'O.M.S ». 4ème édition, 2005.

[187] Thirapanmethee, K. "Detection of Carbapenemases-Producing Acinetobacter baumannii: The Phenotypic Approaches." Pharmaceutical Sciences Asia, vol. 47, no. 4, 2020, pp. 319–328.

[188] Elhani D. "Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accentue." Ann Biol Clin, vol. 70, no. 2, 2012, pp. 117-40.

[189] Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. "Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide." Clin Microbiol Infect, vol. 14, Suppl 1, 2008, pp. 90-103

[190] Jarlier V., Nicolat M.H., Fournier G., & Philipon A. "Extended-broad-spectrum β-lactamases conferring transferable resistance to new β-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns." Review Infection Diseases, vol. 10, 1988, pp. 867-878.

[191] Lee, K., Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y. "Improved Performance of the Modified Hodge Test with MacConkey Agar for Screening Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacilli." Journal of Microbiological Methods, vol. 83, no. 2, Nov. 2010, pp. 149-152. doi:10.1016/j.mimet.2010.08.010.

[192] Bakour, S., Garcia V, Loucif L, Brunel JM, Gharout-Sait A, Touati A, Rolain JM. "Rapid Identification of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii Using a Modified Carba NP Test." New Microbes New Infect, vol. 7, Jul. 2015, pp. 89-93. doi:10.1016/j.nmni.2015.07.001.

[193] Nordmann, P., Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V; European Network on Carbapenemases. "Identification and Screening of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae." Clinical Microbiology and Infection, vol. 18, no. 5, May 2012, pp. 432-438. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03815.x.

[194] Yong, D., Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. "Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo-beta-lactamase-Producing Clinical Isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp." Journal of Clinical Microbiology, vol. 40, no. 10, Oct. 2002, pp. 3798-3801.

[195] Cavaco, LM., Hansen F, Mushtaq S, Hill RLR, Woodford N, Le Hello S, Hendriksen RS, Hammerum AM, Hasman H. "Evaluation of Temocillin for Phenotypic Carbapenemase Screening of Escherichia coli and Salmonella enterica Isolates in Relation to the Presence of Genes Encoding ESBLs and Carbapenemase Production." Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 74, no. 3, Mar. 2019, pp. 639-644. doi:10.1093/jac/dky493.

[196] Moreno, JI., Martin R, Castresana C. "Arabidopsis SHMT1, a Serine Hydroxymethyltransferase that Functions in the Photorespiratory Pathway Influences Resistance to Biotic and Abiotic Stress." The Plant Journal, vol. 41, 2005, pp. 451-463.

[197] Canene-Adams, K. "General PCR." Methods in Enzymology, vol. 529, 2013, pp. 291-298. doi:10.1016/B978-0-12-418687-3.00024-0.

[198] Darweesh, MF. "Molecular Characterization of ESBL Gene in Citrobacter spp. and Antibacterial Activity of Omega-3 against Resistant Isolates." Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, vol. 30, no. 3, 2017, pp. 156-161. doi:10.1515/cipms-2017-0029.

[199] Poirel, L., Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. "Multiplex PCR for Detection of Acquired Carbapenemase Genes." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, vol. 70, no. 1, 2011, pp. 119-123. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002.

[200] Mathur, T., Singhal S., Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A. "Detection of Biofilm Formation among the Clinical Isolates of Staphylococci: An Evaluation of Three Different Screening Methods." Indian Journal of Medical Microbiology, vol. 24, no. 1, 2006, pp. 25-29.

[201] Christensen, GD., Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, "Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to Plastic Tissue Culture Plates: A Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices." Journal of Clinical Microbiology, vol. 22, no. 6, 1985, pp. 996-1006.

[202] Stepanovic, S., Dragana V., Veronika H., Giovanni D. B., Sodanka D., Ivana I., & Filip R. "Quantification of Biofilm in Microtiter Plates: Overview of Testing Conditions and Practical Recommendations for Assessment of Biofilm Production by Staphylococci." APMIS, vol. 115, 2007, pp. 891-899.

[203] Singh, S., Yadav AS, Singh SM, Bharte P. "Prevalence of Salmonella in Chicken Eggs Collected from Poultry Farms and Marketing Channels and Their Antimicrobial Resistance." Food Research International, vol. 43, 2010, pp. 2027-2030.

[204] Zenati, K., Touati, A., Bakour, S., Sahli, F., & Rolain, JM. "Characterization of NDM-1- and OXA-23-producing Acinetobacter baumannii isolates from inanimate surfaces in a hospital environment in Algeria." J Hosp Infect, vol. 92, 2016, pp. 19-26.

[205] Chen, K.H., Chen, L.R., & Wang, Y.K. "Contamination of medical charts: an important source of potential infection in hospitals." PLoS One, vol. 9, no. 2, 2014, article e78512.

[206] Debabza, Manel. "Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire." Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2015.

[207] Metropol. "Protocole de mise au point des méthodes de prélèvement surfacique et d'analyse des substances chimiques sur les surfaces de travail Version 2- Décembre 2019 © INRS." 2019, 30p.

[208] Amiyare, R., Esmail, A., Ghanmi, Y., Ouhssine, M. "Evaluation de l'effet d'un désinfectant à base de Glutaraldehyde à 2 % sur le biofilm d'Acinetobacter baumannii." J Mater Environ Sci, vol. 6, no. 11, 2015, pp. 3168-3173

[209] Huslage, K., Rutala, W.A., Gergen, M.F., & et al. "Microbial assessment of high-, medium-, and low-touch hospital room surfaces." Infection Control & Hospital Epidemiology, vol. 34, 2013, pp. 211-212.

[210] Peyclit, L., Chanteloup, A., Hadjadj, L., & Rolain, J.-M. "Role of Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée Infection in the surveillance of resistance to antibiotics and training of students in the Mediterranean basin and in African countries." New Microbes and New Infections, vol. 26, 2018, pp. S52-S64.

[211] Berrazeg, M., Jeannot, K., Ntsogo Enguéné, V. Y., Broutin, I., Loeffert, S., Fournier, D., & Plésiat, P. "Mutations in β-Lactamase AmpC Increase Resistance of Pseudomonas aeruginosa Isolates to Antipseudomonal Cephalosporins." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 59, no. 10, 2015, pp. 6248-6255.

[212] Berrazeg, M., Diene, S. M., Drissi, M., Kempf, M., Richet, H., Landraud, L., & Rolain, J. M. "Biotyping of Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates from France and Algeria Using MALDI-TOF MS." PloS One, vol. 8, no. 4, 2013, article e61428.

[213] Berrazeg M, Drissi M, Medjahed L, Rolain JM. "Hierarchical clustering as a rapid tool for surveillance of emerging antibiotic-resistance phenotypes in Klebsiella pneumoniae strains". J Med Microbiol 2013;62: 864–74

[214] Bakour, S., Touati, A., Bachiri, T., Sahli, F., Tiouit, D., Naim, M., ... & Rolain, J. M. "First report of 16S rRNA methylase ArmA-producing Acinetobacter baumannii and rapid spread of metallo-β-lactamase NDM-1 in Algerian hospitals." Journal of Infection and Chemotherapy, vol. 20, no. 11, 2014, pp. 696-701.

[215]Bouguenoun, W., Bakour, S., Bentorki, A.A., Al Bayssari, C., Merad, T., & Rolain, J.M. "Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in Enterobacter cloacae." Journal of Global Antimicrobial Resistance, vol. 7, 2016, pp. 135-140.

[216] Chaalal, W., Chaalal, N., Bakour, S., Kihal, M., & Rolain, J.M. "First occurrence of NDM-1 in Acinetobacter baumannii ST85 isolated from Algerian dairy farms." Journal of Global Antimicrobial Resistance, vol. 7, 2016, pp. 150-151.

[217] Ramoul, A., Loucif, L., Bakour, S., Amiri, S., Dekhil, M., & Rolain, J. M. (2016)."Co-occurrence of blaNDM-1 with blaOXA-23 or blaOXA-58 in Clinical Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii Isolates in Algeria." Journal of Global Antimicrobial Resistance, vol. 6, 2016, pp. 136-141.

[218] Zenati, K., Sahli, F., Garcia, V., Bakour, S., Belhadi, D., Rolain, J. M., & Touati, A. "Occurrence and Clonal Diversity of Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Recovered from Inanimate Surfaces in Algerian Hospital Environment: First Report of armA, qnrB and aac(6')-Ib-cr Genes." Journal of Global Antimicrobial Resistance, vol. 10, 2017, pp. 148-153.

[219] Mellouk, F.Z., Bakour, S., Meradji, S., Al-Bayssari, C., Bentakouk, M.C., Zouyed, F., et al. "First detection of VIM-4–producing Pseudomonas aeruginosa and OXA-48–producing Klebsiella pneumoniae in northeastern (Annaba, Skikda) Algeria." Microbial Drug Resistance, vol. 23, 2017, pp. 335-344.

[220] Boulesnam SL, Hamaidi-Chergui F, Benamara M, Azrou S. Phenotypical Comparison between Environmental and Clinical Acinetobacter baumannii Strains Isolated from an Intensive Care Unit. Malays J Med Sci. 2023 Aug;30(4):85-93. doi: 10.21315/mjms2023.30.4.8. Epub 2023 Aug 24. PMID: 37655144; PMCID: PMC10467598.

[221] Sharma, BK., Sharma, BP., Kunwar, A., Basnet, N., Magar, PD., & Adhikari, S. "Prevalence of Extended Spectrum β-Lactamase Producers (ESBLs) with antibiotic resistance pattern of Gram negative pathogenic bacteria isolated from door handles in hospitals of Pokhara, Western Nepal." J Genet Eng Biotechnol, vol. 21, no. 1, 2023, article 139.

[222] Meunier, D., Jouy, E., Lazizzera, C., Kobisch, M., & Madec, J. Y. "CTX-M-1- and CTX-M-15-type β-lactamases in Clinical Escherichia coli Isolates Recovered from Food-Producing Animals in France." International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 28, no. 5, 2006, pp. 402-407.

[223] Baka, Z. A., Abou Dobara, M. I., El-Sayed, A. K., & Badawy, S. A. "Isolation and characterization of some multi-antibiotic resistant bacterial pathogens associated with nosocomial infections." 2014, pp. 33-34.

[224] Darge, A., Kahsay, A. G., Hailekiros, H., Niguse, S., & Abdulkader, M. "Bacterial contamination and antimicrobial susceptibility patterns of intensive care units medical equipment and inanimate surfaces at Ayder Comprehensive Specialized Hospital, Mekelle, Northern Ethiopia." 2017, 15p.

[225] Markogiannakis, A., Fildisis, G., Tsiplakou, S., Ikonomidis, A., Koutsoukou, A., Pournaras, S., et al. "Cross-transmission of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal strains causing episodes of sepsis in a trauma intensive care unit." Infect Control Hosp Epidemiol, vol. 29, no. 5, 2008, pp. 410-417.

[226] Gelaw, A. "Isolation of Bacterial Pathogens from Patients With Postoperative Surgical Site Infections and Possible Sources of Infections at University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia." MSc. Thesis, Addis Ababa University, May 2011.

[227] Dunand, S. "La tenue vestimentaire des infirmières prise de position." Ordre des infirmières et infirmiers du Québec, 2006, pp. 218-237

[228]Liassine, N. "Problème des pathogens Gram negative résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier." Schweiz Med Wochenschr, vol. 130, 2000, pp. 1930-1936.

[229] Otter, J.A., & French, G.L. "Survival of nosocomial bacteria and spores on surfaces and inactivation by hydrogen peroxide vapor." Journal of Clinical Microbiology, vol. 47, 2009, pp. 205-207.

[230] Beggs, C., Kerr, K., Snelling, A., & Sleigh, P. "Acinetobacter spp. and the clinical environment." Indoor and Built Environment, vol. 15, 2006, pp. 19-24

[231] Nwankwo EO, Ibeh I, Enabulele OI. "Incidence and risk factors of surgical site infection in a tertiary health institution in Kano, Northwestern Nigeria." Int J Infect Control 2012; 8:8-13.

[232] Potron A, Poirel L, Nordmann P. "Emerging broad-spectrum resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: Mechanisms and epidemiology." Int J Antimicrob Agents, vol. 45, no. 6, 2015, pp. 568-585.

[233] Weber, David J., et al. "The Role of the Surface Environment in Healthcare-Associated Infections." Current Opinion in Infectious Diseases, vol. 26, no. 4, 2013, pp. 338-344.

[234] Nabila, Saouide, El, Ayne., Hinde, Hami., Samir, Hamama., Sanou, Khô, Coulibaly., Abdelrhani, Mokhtari., Abdelmajid, Soulaymani. "Nosocomial infections and infectious risks related to hospital environment." 319:02023-, 2021

[235] Andrianarivelo, A.M., Rafaravavy, N.E., Rafalimanana, C., Andrantahiana, T.N., & Robinson, A. "Profil bactériologique des infections néonatales à l'unité de réanimation néonatale de la Maternité de Befelatanana." Revue d'anesthésie - réanimation et de médecine d'urgence, vol. 2, no. 2, 2010, pp. 1-4.

[236] Khouchoua, M. "Enquete de Prevalence des Infections Associees aux Soins au Centre Hospitalier Regional Mohamed V Meknes, Ecole Nationale de Sante Publique, Rabat, Morocco, 2018

[237] Flouchi, Rachid., Abdelaziz, Hibattallah., Abderrahim, Elmniai., Ibrahim, Touzani., Kawtar, Fikri, Benbrahim. "Prevalence of surgical site infections at Ibn Baja provincial hospital center in Taza (Morocco): Comparison of 2 study campaigns." International Journal of Innovation and Applied Studies, 2020.

[238] Geetha, Mani, Ishwarya Rajendran, Tharani Jayakumar, & Sangeetha Dhayalan. "Prevalence and Detection of Multidrug Resistance Bacterial Strains Isolated from the Different Inanimate Surfaces of the Hospital Environment." Uttar Pradesh Journal of Zoology, 2023, pp. 95-104.

[239]Ha, Y.E., Kang, C-I., Cha, M.K., Park, S.Y., Wi, Y.M., Chung, D.R., Peck, K.R., Lee, N.Y., & Song, J.H. "Epidemiology and clinical outcomes of bloodstream infections caused by extended-spectrum b-lactamase-producing Escherichia coli in patients with cancer." International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 42, 2013, pp. 403-409.

[240] Kaye, K.S., & Pogue, J.M. "Infections Caused by Resistant Gram-Negative Bacteria: Epidemiology and Management." Pharmacotherapy, vol. 35, 2015, pp. 949-962.

[241] Chagas, T.P., Seki, L.M., Cury, J.C., Oliveira, J.A., Dávila, A.M., Silva, D.M., & Asensi, M.D. "Multiresistance, beta-lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro Brazil." Journal of Applied Microbiology, vol. 111, no. 3, 2011, pp. 572-581.

[242] Deka, S., Kalita, D., Mahanta, P., & Baruah, D. "High Prevalence of Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria Causing Surgical Site Infection in a Tertiary Care Hospital of Northeast India." Cureus, vol. 12, no. 12, 2020, article e12208.

[243] Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, et al. "Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America". Clin Infect Dis 2006; 42: 657-68.

[244] Moges, F., Endris, M., Belyhun, Y., & Worku, W. "Isolation and characterization of multiple drug resistance bacterial pathogens from waste water in hospital and non-hospital environments, Northwest Ethiopia." BMC Research Notes, vol. 7, 2014, article 215.

[245] Alam, M., & Imran, M. "Screening and Potential of Multi-drug Resistance in Gram-Negative Bacteria from Hospital Wastewater." Iran Journal of Science and Technology - Transactions of Science, vol. 42, 2018, pp. 251-259.

[246] Moghnieh, R., Siblani, L., Ghadban, D., El Mchad, H., Zeineddine, R., Abdallah, D., ... El Imad, Z. "Extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii in a Lebanese intensive care unit: risk factors for acquisition and determination of a colonization score." The Journal of hospital infection, vol. 92, no. 1, 2016, pp. 47-53.

[247] Guo, H., Qin, J., & Xiang, J. "Surveillance for and susceptibility of Acinetobacter baumannii in a large hospital and burn center in Shanghai, China, 2007-2013." American Journal of Infection Control, vol. 44, no. 12, 2016, pp. 1718-1719.

[248] Zivanovic, V., Gojkovic-Bukarica, L., Scepanovic, R., Vitorovic, T., Novakovic, R., Milanov, N., et al. "Differences in antimicrobial consumption, prescribing and isolation rate of multidrug resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii on surgical and medical wards." PLoS ONE, vol. 12, no. 5, 2017, article e0175689. doi: 10.1371/journal.pone.0175689.

[249] Bonomo, R.A. "β-Lactamases: A Focus on Current Challenges." Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, vol. 7, no. 1, 2017, article a025239. doi: 10.1101/cshperspect.a025239.

[250] Teklu, DS., Negeri, AA., Legese, MH., Bedada, TL., Woldemariam, HK., & Tullu, KD. "Extended-spectrum beta-lactamase production and multi-drug resistance among Enterobacteriaceae isolated in Addis Ababa, Ethiopia." Antimicrob Resist Infect Control, vol. 8, 2019, article 39. doi: 10.1186/s13756-019-0488-4.

[251] Urška, Rozman., Darja, Duh., Mojca, Cimerman., Sonja, Šostar, Turk. "Hospital wastewater effluent: hot spot for antibiotic resistant bacteria." Journal of Water Sanitation and Hygiene for Development, 2020.

[252] Wu, B., Qi, C., Wang, L., Yang, W., Zhou, D., Wang, M., ... Chai, T. "Detection of microbial aerosols in hospital wards and molecular identification and dissemination of drug resistance of Escherichia coli." Environment international, vol. 137, 2020, article 105479.

[253] Khaertynov, K.S., Anokhin, V.A., Rizvanov, A.A., et al. "Virulence factors and antibiotic resistance of Klebsiella pneumoniae strains isolated from neonates with sepsis." Frontiers in Medicine, vol. 5, 2018, article 225.

[254] Sinha, M., Srinivasa, H., et Macaden, R. "Antibiotic Resistance Profile & Extended Spectrum Beta-lactamase (ESBL) Production in Acinetobacter Species." Indian Journal of Medical Research, vol. 126, no. 1, 2007, pp. 63-67.

[255] Kaur, A., et Singh, S. "Prevalence of Extended Spectrum Betalactamase (ESBL) and Metallobetalactamase (MBL) Producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii Isolated from Various Clinical Samples." Journal of Pathogens, 2018, article 6845985.

[256] Seni, J., Akaro, I.L., Mkinze, B., et al. "Gastrointestinal Tract Colonization Rate of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria and Associated Factors Among Orthopaedic Patients in a Tertiary Hospital in Tanzania: Implications for Infection Prevention." Infect Drug Resist, vol. 14, 2021, pp. 1733-1745.

[257] Rakotovao-Ravahatra, Z.D., Randriatsarafara, F.M., Rasoanandrasana, S., Raverohanta, L., & Rakotovao, A.L. "Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coli responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo [Resistant phenotypes of Escherichia coli strains responsible for urinary tract infection in the laboratory of the University Hospital Joseph Raseta Befelatanana, Antananarivo]." Pan Afr Med J, vol. 26, 2017, p. 166. French.

[258] Sadhana, W. Smita, D. Charan, and A. S. Khare. "Antibiotic resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa with special reference to Imipenem and metallo-beta

lactamase production." Indian Journal of Basic and Applied Medical Research, vol. 4, no. 1, 2014, pp. 117–122.

[259] Sharma, M., Sarita, S., et Chaudhary, U. "Metallo-beta-lactamase Producing Pseudomonas aeruginosa in Neonatal Septicemia." Journal of Laboratory Physicians, vol. 2, no. 1, 2010, p. 14.

[260] Behera, P., Mathur, A., Das, A., Kapil, A., & Sharma, V. "An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-β-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa." Indian Journal of Medical Microbiology, vol. 26, no. 3, 2008, pp. 233-237.

[261] Hodiwala, R., Dhoke, R., & Urhekar, A.D. "Incidence of metallo-beta-lactamase producing Pseudomonas, Acinetobacter and enterobacterial isolates in hospitalised patients." International Journal of Pharmacy and Biological Sciences, vol. 3, 2013, pp. 79-83.

[262] Kabbaj, H., Seffar, M., Belefquih, B., & et al. "Prevalence of Metallo-β-Lactamases Producing Acinetobacter baumannii in a Moroccan Hospital." ISRN Infectious Diseases, vol. 2013, 2013, article ID 154921, 3 pages.

[263] Aletayeb, S.M.H., Dehdashtian, M., Malakian, A., Aramesh, M.R., Kouti, L., et al. "Frequency, Bacteriological Profile, and Outcome of Neonatal Sepsis with Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria at the Tertiary Neonatal Intensive Care Unit, Ahvaz, Iran." Jundishapur Journal of Microbiology, vol. 16, no. 4, 2023, article e134278.

[264] Nogueira, K.daS., Conte, D., Maia, F. V., & Dalla-Costa, L. M. "Distribution of extended-spectrum β-lactamase types in a Brazilian tertiary hospital." Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, vol. 48, no. 2, 2015, pp. 162–169.

[265] Vamsi, SK., Moorthy, RS., Hemiliamma, MN., Chandra Reddy, RB., Chanderakant, DJ., & Sirikonda, S. "Phenotypic and genotypic detection of carbapenemase production among gram negative bacteria isolated from hospital acquired infections." Saudi Med J, vol. 43, no. 3, 2022, pp. 236-243.

[266] White, Katie, L., Hopkins., Danièle, Meunier., Claire, Perry., Rachel, Pike., Paul, Wilkinson., Roger, W., Pickup., John, Cheesbrough., Neil, Woodford.. "Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Hospital Wastewater: A Reservoir That May Be Unrelated to Clinical Isolates." Journal of Hospital Infection, 2016.

[267] Seman, A., Mihret, A., Sebre, S., Awoke, T., Yeshitela, B., Yitayew, B., ... & Abebe, T. "Prevalence and Molecular Characterization of Extended Spectrum β-Lactamase and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolates from Bloodstream Infection Suspected Patients in Addis Ababa, Ethiopia." Infect Drug Resist, vol. 15, 2022, pp. 1367-1382.

[268] Qin, S., Qi, H., & Zhang, Q. "Emergence of extensively drug-resistant Proteus mirabilis harboring a conjugative NDM-1 plasmid and a novel Salmonella genomic island 1 variant, SGI1-Z." Antimicrob Agents Chemother, vol. 59, 2015, pp. 6601-6604.

[269] Acolatse, J.E.E., Portal, E.A.R., Boostrom, I., Akafity, G., Dakroah, M.P., Chalker, V.J., Sands, K., & Spiller, O.B. "Environmental surveillance of ESBL and

carbapenemase-producing gram-negative bacteria in a Ghanaian Tertiary Hospital." Antimicrobial Resistance & Infection Control, vol. 11, no. 1, 2022, article 49.

[270] Tchakal-Mesbahi, A., Metref, M., Singh, V. K., Almpani, M., & Rahme, L. G. "Characterization of antibiotic resistance profiles in Pseudomonas aeruginosa isolates from burn patients." Burns: journal of the International Society for Burn Injuries, vol. 47, no. 8, 2021, pp. 1833–1843.

[271] Martinez, T., Martinez, I., Vazquez, G.J., Aquino, E.E., & Robledo, I.E. "Genetic environment of the KPC gene in Acinetobacter baumannii ST2 clone from Puerto Rico and genomic insights into its drug resistance." Journal of Medical Microbiology, vol. 65, no. 8, 2016, pp. 784-792.

[272] Flemming, H.-C., Baveye, P., Neu, T.R., Stoodley, P., Szewzyk, U., Wingender, J., & Wuertz, S. "Who put the film in biofilm? The migration of a term from wastewater engineering to medicine and beyond." NPJ Biofilms and Microbiomes, vol. 7, 2021, article 10.

[273] Pandey, R., Mishra, S. K., & Shrestha, A. "Characterisation of ESKAPE Pathogens with Special Reference to Multidrug Resistance and Biofilm Production in a Nepalese Hospital." Infection and drug resistance, vol. 14, 2021, pp. 2201–2212.

[274] Alam, M., & Imran, M. "Screening and Potential of Multi-drug Resistance in Gram-Negative Bacteria from Hospital Wastewater." Iran Journal of Science and Technology - Transactions of Science, vol. 42, 2018, pp. 251-259.

[275] Zeighami, H., Valadkhani, F., Shapouri, R., Samadi, E., & Haghi, F. "Virulence Characteristics of Multidrug Resistant Biofilm Forming Acinetobacter baumannii Isolated from Intensive Care Unit Patients." BMC Infectious Diseases, vol. 19, no. 1, 2019, pp. 1-9.

[276] Jr, C.J.S., Mende, K., Beckius, M.L., Akers, K.S., Romano, D.R., Wenke, J.C., et al. "Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections." BMC Infectious Diseases, vol. 13, 2013, article 47.

[277] Pompilio A, Scribano D, Sarshar M, Di Bonaventura G, Palamara AT, Ambrosi C. "Gram-Negative Bacteria Holding Together in a Biofilm: The Acinetobacter baumannii Way." Microorganisms, vol. 9, no. 7, 2021, p. 1353

[278] Selasi, G. N., Nicholas, A., Jeon, H., Na, S. H., Kwon, H. I., Kim, Y. J., Heo, S. T., Oh, M. H., & Lee, J. C. "Differences in Biofilm Mass, Expression of Biofilm-Associated Genes, and Resistance to Desiccation between Epidemic and Sporadic Clones of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Sequence Type 191." PloS One, vol. 11, no. 9, 2016, article e0162576.

[279] Donadu, M.G.; Mazzarello, V.; Cappuccinelli, P.; Zanetti, S.; Madléna, M.; Nagy, Á.L.; Stájer, A.; Burián, K.; Gajdács, M. "Relationship between the Biofilm-Forming Capacity and Antimicrobial Resistance in Clinical Acinetobacter baumannii Isolates: Results from a Laboratory-Based In Vitro Study." Microorganisms, vol. 9, 2021, p. 2384.

[280] Dumaru, R., Baral, R., et Shrestha, L. B. "Study of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance Pattern of Gram-negative Bacilli among the Clinical Isolates at BPKIHS, Dharan." BMC Research Notes, vol. 12, no. 1, 2019, p. 38.

[281] Azizi, O., Shahcheraghi, F., Salimizand, H., Modarresi, F., Shakibaie, M. R., Mansouri, S.h, Ramazanzadeh, R., Badmasti, F., & Nikbin, V. "Molecular Analysis and Expression of bap Gene in Biofilm-Forming Multi-Drug-Resistant Acinetobacter baumannii." Reports of Biochemistry & Molecular Biology, vol. 5, no. 1, 2016, pp. 62-72.

[282] Gallant, C.V., et al. "Common β-lactamases inhibit bacterial biofilm formation." Molecular Microbiology, vol. 58, no. 4, 2005, pp. 1012-1024.

[283] Touati A, Benallaoua S, Djoudi F, Madoux J, Brasme L, De CC. "Characterization of CTX-M-15-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli Strains Isolated from Hospital Environments in Algeria." Microbial Drug Resistance, vol. 13, 2007, pp. 85–89.

[284] Decre´ D, Verdet C, Raskine L, Blanchard H, Burghoffer B, Philippon A, et al. "Characterization of CMY-type beta-lactamases in Clinical Strains of Proteus mirabilis and Klebsiella pneumoniae Isolated in Four Hospitals in the Paris Area." Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 50, 2002, pp. 681–688.

[285] Touati A, Brasme L, Benallaoua S, Gharout A, Madoux J, De CC. "First Report of qnrB-Producing Enterobacter cloacae and qnrA-Producing Acinetobacter baumannii Recovered from Algerian Hospitals." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, vol. 60, 2008, pp. 287–290.

[286] Iabadene H, Messai Y, Ammari H, Ramdani-Bouguessa N, Lounes S, Bakour R, et al. "Dissemination of ESBL and Qnr Determinants in Enterobacter cloacae in Algeria." Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 62, 2008, pp. 133-136.

[287] Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. "Worldwide Dissemination of the blaOXA-23 Carbapenemase Gene of Acinetobacter baumannii." Emerging Infectious Diseases, vol. 16, 2010, pp. 35–40.

[288] Touati A, Medboua C, Touati D, Denine R, Brasme L, de Champs C."CTX-M15-producing Enterobacteriaceae Isolates Causing Bloodstream Infections at the Beni-Messous Hospital in Algiers (Algeria)." International Research Journal of Microbiology, vol. 3, 2012, pp. 181–185.

[289] Drissi M, Baba Ahmed Z, Dehecq B, Bakour R, Plesiat P, Hocquet D. "Antibiotic Susceptibility and Mechanisms of Beta-lactam Resistance Among Clinical Strains of Pseudomonas aeruginosa: First Report in Algeria." Médecine et Maladies Infectieuses, vol. 38, 2008, pp. 187–191.

[290] Kempf M, Bakour S, Flaudrops C, Berrazeg M, Brunel JM, Drissi M, et al. "Rapid Detection of Carbapenem Resistance in Acinetobacter baumannii Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry." PLoS One, vol. 7, 2012, e31676.

[291] Touati M, Diene SM, Racherache A, Dekhil M, Djahoudi A, Rolain JM. "Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 Carbapenemase-Encoding Genes in Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii Isolates from University Hospital of Annaba, Algeria." International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 40, 2012, pp. 89-91.

[292] Touati M, Diene SM, Dekhil M, Djahoudi A, Racherache A, Rolain JM. "Dissemination of Class I Integron Carrying VIM-2 Carbapenemase Gene in Pseudomonas aeruginosa Clinical Isolates from Intensive Care Unit of University Hospital of Annaba, Algeria." Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 57, 2013, pp. 2426-2427.

[293] Baba Ahmed-KaziTani Z, Decre´ D, Genel N, Boucherit-Otmani Z, Arlet G, Drissi M. "Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug-Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010)." Microbial Drug Resistance, vol. 19, 2013, pp. 185–190.

[294] Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, et al. "Prevalence and Characterization of Extended Spectrum Beta-lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia Group Bacteria, in Algeria." Médecine et Maladies Infectieuses, vol. 42, 2012, pp. 20–29.

[295] Zohoun, Alban Gildas Comlan, et al. "Méningite nosocomiale postopératoire à Acinetobacter baumannii multirésistant en neurochirurgie : à propos d'un cas." Fuel and Energy Abstracts, 2012.

[296] Asare Yeboah, E. E., Agyepong, N., Mbanga, J., Amoako, D. G., Abia, A. L. K., Owusu-Ofori, A., & Essack, S. Y. "Multidrug-resistant Gram-negative bacterial colonization in patients, carriage by healthcare workers and contamination of hospital environments in Ghana." Journal of Infection and Public Health, vol. 16, no. Suppl 1, 2023, pp. 2-8.

[297] Van der Zwet, W. C., Nijsen, I. E. J., Jamin, C., van Alphen, L. B., von Wintersdorff, C. J. H., Demandt, A. M. P., & Savelkoul, P. H. M. (2022). "Role of the Environment in Transmission of Gram-negative Bacteria in Two Consecutive Outbreaks in a Haematology-oncology Department." Infection Prevention in Practice, vol. 4, no. 2, 2022, p. 100209.

[298] Odoyo, Erick, MATANO, Daniel, TIRIA, Fredrick, Et Al. "Environmental contamination across multiple hospital departments with multidrug-resistant bacteria pose an elevated risk of healthcare-associated infections in Kenyan hospitals." Antimicrobial Resistance & Infection Control, vol. 12, no. 1, 2023, pp. 1-9.

[299] Sereia, AFR., Christoff, AP., Cruz, GNF., da Cunha, PA., da Cruz, GCK., Tartari, DC., ... Grisard, EC. "Healthcare-Associated Infections-Related Bacteriome and Antimicrobial Resistance Profiling: Assessing Contamination Hotspots in a Developing Country Public Hospital." Front Microbiol, vol. 12, 2021, article 711471

[300] Curtis, D.E., Hlady, C.S., Kanade, G., Pemmaraju, S.V., Polgreen, P.M., & Segre, A.M. "Healthcare worker contact networks and the prevention of hospital-acquired infections." PloS One, vol. 8, no. 12, 2013, article e79906.

[301] Katzenberger, R. H., Rösel, A., & Vonberg, R. P. "Bacterial Survival on Inanimate Surfaces: A Field Study." BMC Research Notes, vol. 14, 2021, p. 97.

[302] Jawad, Ahmed, et al. "Influence of Relative Humidity and Suspending Menstrua on Survival of Acinetobacter spp. on Dry Surfaces." Journal of Clinical Microbiology, vol. 34, no. 12, 1996, pp. 2881–2887.

[303]Jawad, A., et al. "Survival of Acinetobacter baumannii on Dry Surfaces: Comparison of Outbreak and Sporadic Isolates." Journal of Clinical Microbiology, vol. 36, no. 7, 1998, pp. 1938–1941.

[304] Webster, C., Towner, K.J., and Humphreys, H. "Survival of Acinetobacter on Three Clinically Related Inanimate Surfaces." Infection Control and Hospital Epidemiology, vol. 21, no. 4, 2000, pp. 246.

[305]Farrow, John M., Wells, Gary, and Pesci, Everett C. "Desiccation Tolerance in Acinetobacter baumannii Is Mediated by the Two-Component Response Regulator BfmR." PLoS ONE, vol. 13, no. 10, 2018, pp. e0205638.

[306]Zeidler, S., and V. Müller. "Coping with low water activities and osmotic stress in Acinetobacter baumannii: significance, current status and perspectives." Environmental Microbiology 21.7 (2019): 2212-2230.

[307]Neely, A.N. "A survey of gram-negative bacteria survival on hospital fabrics and plastics." Journal of Burn Care & Rehabilitation, vol. 21, no. 6, 2000, pp. 523–527.

[308]Hokunan, Hidekazu, et al. "Survival kinetics of Salmonella enterica and enterohemorrhagic Escherichia coli on a plastic surface at low relative humidity and on low-water activity foods." Journal of Food Protection, vol. 79, no. 10, 2016, pp. 1680-1692.

[309]Wilks, Sandra A., Hans Michels, and Charles W. Keevil. "The survival of Escherichia coli O157 on a range of metal surfaces." International Journal of Food Microbiology, vol. 105, no. 3, 2005, pp. 445–454.

[310]Bale, M. J., Bennett, P. M., Benninger, J. E., & Hinton, M. "The survival of bacteria exposed to desiccation on surfaces associated with farm buildings." Journal of Applied Bacteriology, vol. 75, no. 6, 1993, pp. 519–528.

[311]Hirai, Y. "Survival of bacteria under dry conditions; from a viewpoint of nosocomial infection." Journal of Hospital Infection, vol. 19, no. 3, 1991, pp. 191-200.

[312]Otter JA, Yezli S, French GL. "The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens." Infect Control Hosp Epidemiol, vol. 32, no. 7, 2011, pp. 687–99.

[313]Esteves, D.C., et al. "Influence of biological fluids in bacterial viability on different hospital surfaces and fomites." American Journal of Infection Control, vol. 44, no. 3, 2016, pp. 311-314.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

- **ATB :** Antibiotique
- **BGN :** Bacille à Gram négatif.
- **BHRe:** Bactérie Hautement Résistante
- **BLSE :** Bêta-Lactamases à Spectre Etendu.
- **BMR :** Bactérie multi résistance.
- **C1G :** Céphalosporine de Première Génération
- **C2G :** Céphalosporine de Deuxième Génération
- **C3G :** Céphalosporine de Troisième Génération
- **C4G :** Céphalosporine de Quatrième Génération
- **CARB-R :** résistance aux carbapénèmes
- **CHN** : céphalosporines hyper produites
- **CHU :** Centre Hospitalo Universitaire
- **CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute
- **CMB :** Concentration Minimale Bactéricide
- **CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice
- **CPE :** entérobactéries productrices de carbapénémases
- **CRE** : Enterobacteriaceae Résistantes aux Carbapénèmes
- **CTX-M:** Céfotaximase-Munich
- **DD-Test:** Double Discs
- **EDTA:** Etylenediamine tetra acetic acid
- **EPH :** Etablissement publics hospitaliers
- **EPS :** Substances polymériques extracellulaires
- **IAS :** Infections associées aux soins
- **IMR :** Indice de multirésistance
- **IN :** infections nosocomiales
- **KPC:** *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase
- **LPS :** Lpopolysaccharide
- **MCNP test :** Carba NP-Test modifié.
- **MDR**: Multi Drug Resistant)

- **MβL:** Métallo-β-Lactamase
- **NDM** : New Dehli metallo-β-lactamase-
- **OMS :** Organisation mondiale de la santé
- **OXA :** Oxacillinases
- **PAMR:** *P. aeruginosa* antibiotics multi-resistant
- **PCR :** Polymerase Chain Reaction
- **PDR:** Pan Drug Resistant
- **PLP :** Protéines de liaison aux pénicillines.
- **UFC/ml :** Unité Formant Colonie/ millilitre
- **XDR**: Extensively Drug Resistant

APPENDICE B

GLOSSAIRE

Antibioprophylaxie : Administration d'antibiotiques avant une intervention chirurgicale pour prévenir les infections postopératoires.

Biofilm : Communauté de bactéries adhérant à une surface et enveloppée dans une matrice extracellulaire, favorisant la résistance aux antibiotiques.

Caractérisation : Processus analytique visant à définir les traits distinctifs d'un microorganisme, impliquant souvent l'identification de marqueurs génétiques, la détermination du profil de résistance aux antibiotiques, et l'analyse des caractéristiques phénotypiques.

Cohorte bactérienne : Groupe de bactéries étudié en tant qu'unité pour comprendre les tendances épidémiologiques et les caractéristiques de résistance.

Échange génétique horizontal : Transmission de matériel génétique entre bactéries non apparentées, favorisant la dissémination rapide de gènes de résistance.

Fimbriae : Des appendices protéiques présents chez de nombreuses bactéries Gram négatif qui sont plus fins et plus courts que ne le sont les flagelles. Ils ne sont pas capables de rotation et ne présentent pas de corps basal complexe.

Gène de résistance : Séquence d'ADN qui code pour des produits protéiques conférant à la bactérie la capacité de contrecarrer l'action d'un ou de plusieurs antibiotiques.

Infection associée aux soins : Tout évènement infectieux en rapport avec un processus, une structure ou une démarche de soins.

Infection communautaire : Toute infection acquise en dehors d'un établissement de santé, sans relation avec un soin.

Infection nosocomiale : Une infection acquise dans un établissement de santé. Elle ne doit être ni présente ni en incubation lors de l'admission. Un délai arbitraire de 48 heures entre l'admission et la survenue des symptômes infectieux est

habituellement retenu. Ce délai est porté à 30 jours pour les infections du site opératoire et à un an après implantation de matériel étranger.

Infection opportuniste : Une infection due à un germe habituellement peu agressif mais dont la pathogénicité est amplifiée par un déficit immunitaire chez le malade atteint.

Intégron : Un élément génétique mobile incapable d'autoréplication qui est obligatoirement porté sur un réplicon de nature chromosomique ou plasmidique. Les intégrons constituent un système de capture et d'expression des gènes y compris les gènes d'antibiorésistance.

Isolat : Microorganisme individuel obtenu à partir d'un échantillon, généralement cultivé pour l'analyse, la caractérisation ou la typage.

Lipopolysaccharide (LPS) : Molécule de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, formée d'un lipide A, d'un polysaccharide et d'une chaine latérale O. le LPS stabilise la structure membranaire et le lipide A est une endotoxine.

Manuportage : Transmission d'un germe d'un individu à un autre par l'intermédiaire des mains.

Mécanismes de résistance : Ensembles complexes de processus biologiques impliqués dans la capacité d'une bactérie à échapper à l'action des antibiotiques, englobant des modifications génétiques, des altérations de la perméabilité cellulaire, et des mécanismes d'élimination des agents antimicrobiens.

Méta-analyse : Une démarche scientifique systématique combinant les résultats d'une série d'études indépendantes sur un problème donné, selon un protocole reproductible. La métaanalyse permet une analyse plus précise des données par l'augmentation du nombre de cas étudiés et de tirer une conclusion globale.

Multirésistance : Phénotype bactérien témoignant de la capacité d'une souche à conserver sa viabilité face à l'exposition simultanée à plusieurs classes d'antibiotiques, souvent médiée par l'expression de divers mécanismes de résistance.

Phénotype sauvage : Caractérise une souche bactérienne non affectée par des mécanismes de résistance, servant de référence pour évaluer les changements phénotypiques induits par la résistance.

Plasmide : Un ADN circulaire ou linéaire extrachromosomique à réplication autonome présent chez certaines bactéries. Il est responsable du transfert des gènes notamment d'antibiorésistance.

Pneumonie associée à la ventilation (PAV) : Une pneumonie qui se développe plus de 48 h après l'intubation des patients et leur ventilation mécanique.

Pneumonie nosocomiale : Une pneumonie qui débute chez un malade hospitalisé non intubé après 48 h d'admission.

Point de rupture : Concentration d'un antibiotique à partir de laquelle une bactérie est considérée comme résistante, déterminée par des tests de sensibilité.

Porine : Protéine transmembranaire des bactéries permettant le passage des ions et des autres petites molécules hydrophiles.

Prévalence hospitalière : Taux global d'infections nosocomiales dans une institution de santé à un moment donné, exprimé en pourcentage.

Régulon : Ensemble coordonné de gènes régulés par les mêmes mécanismes de régulation, pouvant inclure des gènes de résistance.

Réponse au stress oxydatif : Capacité d'une bactérie à résister aux dommages causés par des espèces réactives de l'oxygène, souvent liée à la résistance aux antibiotiques.

Réseau de surveillance épidémiologique : Système organisé pour la collecte et l'analyse systématiques des données sur les infections nosocomiales dans plusieurs établissements de santé.

Résistance croisée : Phénomène où la résistance à un antibiotique confère également une résistance à d'autres antibiotiques de manière non spécifique.

Séquence spécifique d'insertion : La forme la plus simple d'un élément transposable, généralement de taille inférieure à 2,5kb, capable de se déplacer de façon autonome dans les génomes microbiens et ne codent que pour leur propre

transposition. Elle ne constitue pas elle-même un support de l'antibiorésistance mais est susceptible d'interférer dans la régulation de certains mécanismes qui y sont impliqués.

Sérovar : (également appelé sérotype) désigne une propriété antigénique permettant d'identifier une cellule(bactéries, globule rouge, etc.) ou un virus par des méthodes sérologiques.

Stratégie de bundle : Ensemble coordonné de pratiques de soins visant à prévenir spécifiquement une infection nosocomiale, souvent regroupées en protocoles.

Synergie antibiotique : Interaction positive entre deux ou plusieurs antibiotiques, résultant en un effet combiné supérieur à la somme de leurs effets individuels.

Transfert horizontal de gènes : Transmission directe de gènes entre individus de la même génération, souvent médiée par des mécanismes tels que la conjugaison ou la transformation.

Transposon : Un segment d'ADN mobile, n'ayant pas d'existence autonome stable, responsable de la transmission de gènes dont les gènes d'antibiorésistance.

Ubiquitaire : Une espèce qui peut se développer dans des habitats variés.

Up-regulation génique : Activation accrue de l'expression génique, par exemple, de gènes de résistance, en réponse à des stimuli

Virulence : Capacité intrinsèque d'une bactérie à causer une maladie, souvent liée à des facteurs de virulence spécifiques.

Zone d'inhibition : Mesure de l'efficacité d'un antibiotique dans un test d'antibiogramme. Cela représente la région autour d'un disque d'antibiotiques où la croissance bactérienne est inhibée. L'analyse des zones d'inhibition aide à déterminer la sensibilité des bactéries à un antibiotique particulier.

APPENDICE C

Tableau 1 : Principales réactions de diagnostic utilisées pour la distinction des principaux genres d'entérobactéries.

	H_2S	Urée	Mob	Cit	VP	Indole	ONPG	Lac	Glu
Escherichia	-	-	+	-	-	+	+	+	+
Klebsiella	-	+	-	+	+	+/-	+	+	+
Enterobacter	-	-	+	+	+	-	+	+	+
Serratia	-	-	+	+	+	-	+	-	+
Citrobacter	+/-	-	+	+	-	-	+	+	+
Proteus	+/-	+	+	+/-	-	+/-	-	-	+
Hafnia	-	-	-		+	-	+/-	-	+

Glu : Glucose ; **Lac :** Lactose ; **ONPG :** Orthonitrophénol-bêta-galactosidase ; **VP :** Voges-Proskauer; **Cit :** Citrate; **Mob:** Mobilité; **H_2S:** Sulfure d'hydrogène

APPENDICE D

❖ Kit PCR

Composant	Volume/quantité
Taq polymerase	500 Units ×1 (5 units/ µl)
10 × *Taq* Buffer	1,2 ml × 1
2,5 Mm dNTPs	800µl × 1
6 × DNA Loading buffer	1ml ×1

❖ Composés réactionnels

Composant	Volume	Concentration finale
Forward primer (10µM)	1 µl	0,2µM
Reverse primer (10µM)	1 µl	0,2µM
10 × *Taq* Buffer	5 µl	
2,5 Mm dNTPs	4 µl	0,2µM
Taq polymerase	0,5 -1 µl	2,5-5 units
ddH_2O	variable	-
Volume total	50µl	-

❖ PCR Master Mix

Composant	Volume/quantité
Templat	≤1 µg
Forward primer (10µM)	1 µl
Reverse primer (10µM)	1 µl
2× Master Mix	12,5 µl
ddH_2O	25 µl

APPENDICE E

Tableau 01 : Valeurs critiques des diamètre sdes zone d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline + Ac clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	——	≥ 15	≥ 32	——	≤ 16
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Méropenème	**10µg**	**≤ 19**	**20 - 22**	**≥ 23**	**≥ 4**	**2**	**≤ 1**
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	—	≤ 16
Ciprofloxacine	5µg	**≤21**	**22 – 25**	**≥ 26**	**≥1**	**0,5**	**≤0,25**
Ciprofloxacine *Salmonella* spp.	**5µg**	**≤ 20**	**21 – 30**	**≥ 31**	**≥ 0,06**	**0,12 - 0,5**	**≤ 1**
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine	CMI	——	——	——	>2**	——	≤2**
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	——	≤ 2/38

Tableau 02 : Valeurs critiques des diamètres des zone d'inhibition et des CMI pour les *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarcilline**	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16
Ticarcilline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 – 64/2	≤ 16/2
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16
Pipéracilline+ tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128/4	32/4– 64/4	≤ 16/4
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2
Meropénème	**10 µg**	**≤ 15**	**16 – 18**	**≥ 19**	**≥ 8**	**4**	**≤ 2**
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Ciprofloxacine	5µg	**≤18**	**19 - 24**	**≥25**	**≥ 2**	**1**	**≤0,5**
Lévofloxacine	5µg	**≤ 14**	**15 - 21**	**≥ 22**	**≥ 4**	**2**	**≤1**
Fosfomycine***	—	—	—	—	—	—	—
Colistine	**CMI**	—	—	—	≥4****	—	≤ 2****

Tableau 03 : Valeurs critiques des diamètres des zone d'inhibition et des CMI pour les *Acinetobacter ssp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarcilline**	75 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16
Pipéracilline+ tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128/4	32/4-64/4	≤ 16/4
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2
Méropénème	**10 µg**	**≤ 14**	**15 - 17**	**≥ 18**	**≥ 8**	**4**	**≤ 2**
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Nétilmicine	CMI	—	—	—	≥ 32	16	≤ 8
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Doxycycline	30µg	≤ 9	10 – 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	—	≤ 2/38
Colistine	CMI	—	—	—	≥ 4***	—	≤ 2***

APPENDICE F

Tableau 01 : Fréquence des prélèvements des différents sites au niveau des différents services du CHU Frantz Fanon.

Réanimation		Neurochirurgie		Traumatologie		CAC hématologie	
Chaise Roulante	5	Bocal d'aspiration	5	Lits	13	poignet	4
Chariot De Réanimation	5	Boites d'instruments	5	Potence	10	Orifice d'oxygène	4
Echographe	5	Chariot de réanimation	5	Tables	10	LIT	4
Fenetre	5	Chariot de soin	5	Boite d'instrument	8	Potence	6
Humidificateur	5	Interrupteurs	5	Table malade	13	Table	4
Interupteurs	5	Le point d'eau en commun des salles d'opérations	5	Bocaux et tuyaux d'aspiration	9	Commande	4
Laryngoscope	5	Les tuyaux d'aspiration	5	Chariot de réanimation	10	Orifice du sous vide	4
Lit	5	Les lits	5	Appareil d'anesthésie	8	Interrupteur	4
Masque	5	Les matelas	5	Laverie arrière bloc	8	Support	4
Murs	5	Les potences	5	Autoclave	8	Point d'eau	4
Orifice D'oxygène	5	Microscope	5				
Poignet De Porte	5	MURS « bloc opératoire »	5				
Porte Principale	5	Murs	4				
Portes	5	POIGNET DE PORTE « bloc opératoire »	5				
Potence	5	POIGNET DE PORTES « post op»	5				
Réspirateur	5	Porte « bloc opératoire »	5				
Scope	5	RESPIRATEUR « bloc opératoire »	5				
Seringue Electrique	5	Respirateurs « post op»	5				
Source Vide	5	Seringues électriques	5				
		Source d'oxygène	5				
		SOURCE VIDE « post op»	5				
		Sterribloc	5				

Tableau 02 : Fréquence des prélèvements des différents sites au niveau des services de néonatologie et gynécologie EPH Boufarik.

Néonatologie		Gynécologie	
Barboteur	12	Porte	11
Biberon	6	Chariot	2
Chariot	10	électrique	4
Couveuses	18	Evier/robinet	10
Distributeur de savo	4	Fenêtre	6
Evier/robinet	14	Interrupteurs	1
Fenêtres	9	Lit	10
Lits	54	Masque	4
Mur	12	Mur	4
Porte	12	Potence	4
Potence	9	Respirateur	4
Rideaux	6	respiratoire	4
Sols	10	Scialytique	6
Table d'éxamination	10	Scopes	5
Chaise	4	Sol	3
		Table d'éxamination	5
		Table opératoire	7

Tableau 03 : Fréquence des prélèvements des différents sites au niveau des services de Diabétologie et Pneumologie EPH Ibrahim Trichin.

Diabétologie		Pneumologie	
Aspirateur	1	Aspirateur	2
fenetres	2	fenetres	2
LIT	13	Interrupteur	
murs	3	LIT	12
poignet		murs	3
Point d'eau	6	poignet	4
portes	4	Point d'eau	5
Potence	4	portes	
respirateurs		Potence	3
Table	5	respirateurs	2
Chariot	2	Table	5
		Chariot	2

Appendice G

Tableau 1 : Profil de résistance des entérobactéries testés

Espèces	N° de la souche	Antibiogramme											IMR
		AMC	AK	CF	CIP	CTX	FOX	GN	IMP	MER	NA	SXT	
Klebsiella oxytoca	Koxy 01	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Koxy 02	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Koxy 03	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
Klebsiella terrigena	Kter1	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Kter 2	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Kter 3	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Kter 4	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
K.pneumoiae	Kr1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kr2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kr 3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kr 4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kr 5	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kr 6	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kr 7	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kr 8	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kr 9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kr 10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kr 11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kr 12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kr 13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kr 14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kn1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kn2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kn3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kn4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kn5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kn6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Kn7	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn8	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn9	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn10	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn11	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn12	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn13	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn14	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn15	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn16	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kn17	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kn18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kn19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kn20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kn21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kn22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Ktr 1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Ktr 2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Ktr 3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	Ktr 4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Ktr 5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Ktr 6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**

	Kcac1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kcac2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kcac3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Knéo1	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Knéo2	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Knéo3	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Knéo4	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Knéo5	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	Knéo6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Knéo7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kgf1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kgf2	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kgf3	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kgf4	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kgf5	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Kpne 1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Kpne 2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo r1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo r2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo r3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo r4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo r5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo r6	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo r7	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo r8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo r9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo r10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo n1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo n2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo n3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.clo n4	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n5	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n6	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n7	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n8	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n9	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n10	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
E.cloacae	E.clo n11	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n12	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n13	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n14	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo n15	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo t1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo t2	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo t3	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo t4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo t5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo néo	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo pne	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.clo gaf1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf2	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf3	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf4	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf5	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf6	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf7	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf8	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf9	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**

	E.clo gaf10	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf11	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf12	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf13	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf14	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf15	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.clo gaf16	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
Enterobacter aerogenes	E1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
Serratia marcescens	S.mrs r1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs r2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs r3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs r4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs n1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs n2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs tr	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.mrs néo	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
Serratia plymuthica	S.ply néo 1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.ply néo 2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	S.fic néo	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
E.coli	E.coli r1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.coli r2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli n1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.coli n2	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.coli tr1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	E.coli tr2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,90**
	E.coli néo	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	E.coli gyn	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli diab1	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	E.coli diab2	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	E.coli diab3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli diab4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli diab5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli diab6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli diab7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli pne1	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	E.coli pne2	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	E.coli pne3	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	**0,36**
	E.coli pne4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli pne5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	E.coli pne6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
E.velniris	EV1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
C.frendii	Citro1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Citro2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Citro3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Citro4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Citro5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Citro6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Citro7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
P.mirabilis	Prot1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**1**
	Prot2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**1**
	Prot3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**1**
	Prot4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**1**
	Prot5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Prot6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**

	Prot7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Prot8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Prot9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Prot10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Prot11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
Pantoea spp	Pnt1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	**0,72**
	Pnt2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pnt9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**

Tableau 2 : Profil de résistance des BGNnf testés

Espèces	**N° de la souche**	**Antibiogramme**											**IMR**
		AMK	**CAZ**	**GEN**	**IMP**	**LVX**	**MEM**	**PIP**	**SXT**	**TCC**	**TIC**	**TOB**	
A.baumannii	**Aba1**	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba8	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba11	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba12	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba13	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba15	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba16	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba17	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba18	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba19	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba20	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba21	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba22	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba23	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba24	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba25	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba26	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba27	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba28	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba29	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba30	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba31	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba32	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba33	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba34	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**
	Aba35	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	**0 ,7**

	Aba36	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Aba37	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Aba38	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba39	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba40	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Aba41	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
P.aeruginosa	**Pae1**	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**0,9**
	Pae8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae16	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae17	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae25	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae26	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae27	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae28	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae29	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae31	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae32	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae33	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae34	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**
	Pae35	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	**0**

APPENDICE H

Tableau 1 : CMI des entérobactéries

Souches	CS	CTX	CIP	ERT	GEN	IMP	MER
E.clo gaf 10	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
E.clo gaf 11	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo gaf 12	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
E.clo gaf 13	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
E.clo gaf 14	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
E.clo gaf 15	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
E.clo gaf 16	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
E.clo gaf 2	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
E.clo gaf 3	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo gaf 4	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
E.clo gaf 5	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
E.clo gaf 6	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
E.clo gaf 7	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
E.clo gaf 8	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
E.clo gaf 9	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo gaf1	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
E.clo n1	1	256	256	64	256	64	128
E.clo n10	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
E.clo n11	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo n12	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
E.clo n13	0,25	256	128	0,125	128	0,25	1
E.clo n14	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
E.clo n15	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo n2	0,125	256	256	64	256	64	64
E.clo n3	0,125	128	256	32	256	32	64
E.clo n4	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
E.clo n5	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo n6	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
E.clo n7	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
E.clo n8	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
E.clo n9	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
E.clo néo	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
E.clo pne	0,125	8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
E.clo r1	0,25	256	32	64	256	32	64
E.clo r2	1	128	64	32	256	16	16
E.clo r3	1	256	32	16	128	16	16
E.clo r4	0,25	256	32	64	256	32	64

E.clo r5	0,125	256	256	0,125	256	0,25	0,25
E.clo r6	0,25	256	128	0,125	128	0,25	1
E.clo t1	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
E.clo t2	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
E.clo t3	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
E.coli r	0,25	256	32	64	256	32	64
E.coli diab 5	0,125	8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
E.coli diab1	0,125	8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
E.coli diab2	0,125	8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
E.coli diab3	0,125	8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
E.coli diab4	0,125	8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
E.coli n1	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
E.coli n2	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
E.coli tr1	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
Kcac	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
Kfg1	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
Kfg2	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
Kfg3	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
Kfg4	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
Kfg5	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
Kn1	1	128	128	16	128	32	16
Kn10	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
Kn11	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
Kn12	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
Kn13	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
Kn14	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
Kn15	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
Kn16	0,25	128	256	0,125	128	0,25	0,125
Kn2	0,25	256	64	16	256	32	16
Kn3	1	128	128	16	128	32	16
Kn4	1	128	128	16	128	32	16
Kn5	0,25	256	64	16	256	32	16
Kn6	0,25	256	64	16	256	32	16
Kn7	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
Kn8	0,125	128	256	0,25	256	1	0,25
Kn9	0,125	256	256	1	256	0,125	0,125
Knéo1	0,125	32	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Knéo2	0,125	32	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Knéo3	0,25	32	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Knéo4	0,125	16	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Knéo5	0,125	16	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Koxy 01	0,125	8	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Kr1	1	256	64	8	256	32	16

Kr2	1	128	64	16	128	32	16
Kr3	0,25	256	64	16	256	32	16
Kr4	0,125	128	64	16	256	16	16
Kr5	0,125	256	256	0,125	256	0,25	0,25
Kr6	0,25	256	128	0,125	128	0,25	1
Kr7	0,125	64	256	0,125	128	0,125	0,125
Kr8	0,125	64	32	0,25	256	1	0,25
Kter 2	0,25	16	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Kter 3	0,125	16	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Kter 4	0,125	16	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Kter1	0,125	32	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Ktr1	0,25	256	64	16	256	32	16
Ktr2	0,25	256	64	16	256	32	16
Ktr3	0,125	128	64	16	256	16	16
PONTEA 1	0,125	256	256	1	128	0,25	0,25
Prot T2	4	256	64	32	256	32	16
Prot N1	4	128	128	16	128	32	16
Prot N2	4	256	64	16	256	32	16
Prot T1	4	128	64	16	256	16	16
moyenne	0,37878788	143,595962	142,265152	7,15909091	168,123737	8,23106061	7,77777778
ecart-type	0,78336795	94,3627304	110,627879	15,2054575	94,3140726	14,7146364	19,0985842
variance	0,61366535	8904,32488	12238,5275	231,205937	8895,14429	216,520524	364,755917
CMI- MIN	0,125	8	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
CMI-MAX	4	256	256	64	256	64	128

Tableau 2 : CMI des bactéries Gram négatives non fermentaire

Souche	CAZ	CS	CIP	GEN	IMP	MER
ABA14	512	0,125	256	512	512	512
ABA15	512	0,125	128	256	256	256
ABA16	256	0,125	64	512	128	128
ABA17	256	1	64	512	128	128
ABA18	256	1	64	512	128	128
ABA19	512	0,125	256	512	128	128
ABA1	256	0,125	128	256	128	128
ABA4	256	0,125	64	256	128	128
ABA7	256	0,125	256	256	128	128
ABA8	256	0,125	128	512	128	128
ABA9	512	0,125	64	256	128	128
ABA11	512	1	256	256	128	128

ABA21	256	1	128	512	512	512
ABA23	256	0,125	64	256	512	512
ABA24	512	0,125	64	256	128	128
ABA26	512	0,125	64	256	128	128
ABA29	512	0,125	128	256	128	128
ABA30	512	0,125	256	512	128	128
ABA32	256	0,125	128	512	128	128
ABA36	256	0,125	256	256	256	256
ABA37	512	0,125	128	256	512	512
PAE1	256	0,125	64	256	512	512
PAE7	512	0,125	64	0,125	256	256
PAE8	512	0,125	256	0,5	128	128
PAE9	512	0,125	128	256	128	128
PAE11	256	0,125	64	256	512	512
ABA2	256	0,125	64	32	128	128
ABA10	256	0,125	256	256	128	128
ABA12	256	0,125	128	512	128	128
ABA33	512	0,125	64	256	128	128
ABA34	256	1	64	512	128	128
ABA35	512	0,125	256	512	128	128
PAE10	256	0,125	128	256	128	128
ABA3	256	0,125	128	256	128	128
ABA5	256	0,125	64	256	128	128
ABA6	256	0,125	256	256	128	128
ABA13	256	0,125	128	512	128	128
ABA20	512	0,125	64	256	128	128
ABA22	512	1	256	256	128	128
ABA25	256	1	128	512	512	512
ABA27	256	0,125	256	256	128	128
ABA28	256	0,125	128	512	128	128
ABA31	512	0,125	64	256	128	128
ABA40	256	0,125	64	256	64	512
ABA41	256	0,125	128	128	64	128
PAE4	16	0,125	256	128	128	64
CMI Min	16	0,125	128	64	64	
CMI MAX	512	1	256	512	512	512
ecart-type	142,916332	0,32954407	79,1672975	154,534241	147,254014	153,012258

Appendice I

CORRELATION MULTIPLE

	Nombre de Gène de résistance	Indice de multirésistance	Potentiel de biofilm
Nombre de Gène de résistance	1	0,142933462	0,29827938
Indice de multirésistance	0,142933462	1	-0,103179481
Potentiel de biofilm	0,29827938	-0,103179481	1

Appendice J

Tableau 1 : Valeurs des DO calculés pour les BGNnf

Souche	DO1	DO2	DO3	Moyenne	ecart-type
ABA1	0,23	0,26	0,19	0,227	0,03511885
ABA10	0,188	0,192	0,178	0,186	0,0072111
ABA11	0,259	0,256	0,264	0,260	0,00404145
ABA12	0,201	0,218	0,211	0,210	0,008544
ABA13	0,29	0,275	0,192	0,252	0,05278573
ABA14	0,244	0,234	0,246	0,241	0,006
ABA15	0,27	0,267	0,262	0,266	0,00404145
ABA16	0,289	0,291	0,28	0,287	0,00585947
ABA17	0,221	0,237	0,24	0,233	0,01021437
ABA18	0,29	0,284	0,281	0,285	0,00458258
ABA19	0,214	0,206	0,206	0,209	0,0046188
ABA2	0,201	0,197	0,189	0,196	0,0061101
ABA20	0,237	0,294	0,218	0,250	0,03955165
ABA21	0,184	0,201	0,223	0,203	0,01955335
ABA22	0,173	0,211	0,263	0,216	0,04518112
ABA23	0,206	0,214	0,206	0,209	0,0046188
ABA24	0,225	0,26	0,22	0,235	0,02179449
ABA25	0,293	0,275	0,284	0,284	0,009
ABA26	0,292	0,289	0,292	0,291	0,00173205
ABA27	0,295	0,264	0,27	0,276	0,01644182
ABA28	0,244	0,124	0,111	0,160	0,07332348
ABA29	0,292	0,292	0,292	0,292	0
ABA3	0,23	0,24	0,218	0,229	0,01101514
ABA30	0,291	0,291	0,291	0,291	0
ABA31	0,265	0,254	0,275	0,265	0,01050397
ABA32	0,237	0,237	0,237	0,237	0
ABA33	0,259	0,263	0,254	0,259	0,00450925
ABA34	0,19	0,184	0,206	0,193	0,01137248
ABA35	0,216	0,224	0,219	0,220	0,00404145
ABA36	0,184	0,184	0,186	0,185	0,0011547
ABA37	0,206	0,206	0,206	0,206	0
ABA4	0,22	0,214	0,227	0,220	0,00650641
ABA40	0,292	0,265	0,294	0,284	0,01619671
ABA41	0,247	0,237	0,252	0,245	0,00763763
ABA5	0,192	0,205	0,189	0,195	0,0085049
ABA6	0,292	0,294	0,297	0,294	0,00251661
ABA7	0,197	0,201	0,211	0,203	0,0072111
ABA8	0,273	0,292	0,21	0,258	0,04292241
ABA9	0,201	0,223	0,204	0,209	0,01193035
PAE1	0,27	0,278	0,265	0,271	0,00655744
PAE10	0,32	0,316	0,308	0,315	0,0061101

PAE11	0,288	0,292	0,295	0,292	0,00351188
PAE4	0,304	0,317	0,32	0,314	0,0085049
PAE7	0,29	0,299	0,289	0,293	0,00550757
PAE8	0,297	0,297	0,297	0,297	0
PAE9	0,37	0,33	0,41	0,370	0,04

Tableau 2 : Valeurs des DO calculés pour les Entérobacteries

Souches	DO1	DO2	DO3	moyenne	ecat-type
E.cloacea MI1	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
E.COLI 1	0,195	0,228	0,211	0,211	0,017
E.coli MI2	0,249	0,241	0,248	0,246	0,004
E.coli MI3	0,237	0,238	0,248	0,241	0,006
E.coli MI4	0,246	0,239	0,244	0,243	0,004
E.coli MI5	0,211	0,207	0,216	0,211	0,005
E.coli MI6	0,207	0,205	0,214	0,209	0,005
E.coli MI7	0,216	0,224	0,216	0,219	0,005
E.coli N1	0,127	0,13	0,136	0,131	0,005
E.coli N2	0,114	0,114	0,114	0,114	0,000
E.coli T1	0,251	0,239	0,24	0,243	0,007
Ecl G1	0,114	0,114	0,114	0,114	0,000
Ecl G10	0,221	0,249	0,24	0,237	0,014
Ecl G11	0,24	0,241	0,238	0,240	0,002
Ecl G12	0,249	0,241	0,242	0,244	0,004
Ecl G13	0,248	0,249	0,258	0,252	0,006
Ecl G14	0,193	0,269	0,202	0,221	0,042
Ecl G15	0,266	0,249	0,261	0,259	0,009
Ecl G16	0,251	0,269	0,259	0,260	0,009
Ecl G17	0,278	0,24	0,258	0,259	0,019
Ecl G2	0,238	0,249	0,238	0,242	0,006
Ecl G3	0,254	0,266	0,254	0,258	0,007
Ecl G4	0,245	0,251	0,245	0,247	0,003
Ecl G5	0,251	0,239	0,251	0,247	0,007
Ecl G6	0,172	0,196	0,172	0,180	0,014
Ecl G7	0,237	0,245	0,237	0,240	0,005
Ecl G8	0,245	0,269	0,25	0,255	0,013
Ecl G9	0,237	0,209	0,237	0,228	0,016
Ecl1	0,193	0,189	0,176	0,186	0,009
Ecl2	0,197	0,221	0,201	0,206	0,013
Ecl3	0,183	0,212	0,221	0,205	0,020
Ecl4	0,19	0,204	0,198	0,197	0,007
Ecl5	0,127	0,13	0,127	0,128	0,002
Ecl6	0,114	0,114	0,114	0,114	0,000
Ecn1	0,209	0,214	0,205	0,209	0,005
Ecn10	0,193	0,269	0,249	0,237	0,039

Ecn11	0,266	0,249	0,248	0,254	0,010
Ecn12	0,251	0,269	0,263	0,261	0,009
Ecn13	0,278	0,24	0,262	0,260	0,019
Ecn14	0,241	0,238	0,222	0,234	0,010
Ecn15	0,127	0,13	0,127	0,128	0,002
Ecn2	0,196	0,169	0,186	0,184	0,014
Ecn3	0,245	0,24	0,254	0,246	0,007
Ecn4	0,238	0,249	0,235	0,241	0,007
Ecn5	0,254	0,266	0,254	0,258	0,007
Ecn6	0,245	0,251	0,245	0,247	0,003
Ecn7	0,237	0,278	0,237	0,251	0,024
Ecn8	0,249	0,241	0,249	0,246	0,005
Ecn9	0,248	0,249	0,274	0,257	0,015
Ect1	0,114	0,114	0,114	0,114	0,000
Ect2	0,238	0,249	0,238	0,242	0,006
Ect3	0,254	0,266	0,254	0,258	0,007
K.oxytoca	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
K.pneumonea MI1	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
K.pneumonea MI2	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
K.pneumonea N3	0,193	0,269	0,193	0,218	0,044
K.terrigena G1	0,221	0,249	0,224	0,231	0,015
K.terrigena G2	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
K.terrigena G3	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
K.terrigena G4	0,245	0,239	0,245	0,243	0,003
Kcac	0,226	0,237	0,234	0,232	0,006
Kfg1	0,221	0,219	0,221	0,220	0,001
Kfg2	0,24	0,241	0,24	0,240	0,001
Kfg3	0,197	0,221	0,197	0,205	0,014
Kfg4	0,234	0,238	0,241	0,238	0,004
Kfg5	0,271	0,278	0,274	0,274	0,004
Kfn1	0,248	0,251	0,258	0,252	0,005
Kfn2	0,157	0,172	0,157	0,162	0,009
Kfn3	0,2	0,197	0,2	0,199	0,002
Kfn4	0,237	0,245	0,235	0,239	0,005
Kn1	0,249	0,254	0,256	0,253	0,004
Kn10	0,238	0,183	0,202	0,208	0,028
Kn11	0,278	0,269	0,27	0,272	0,005
Kn12	0,251	0,239	0,255	0,248	0,008
Kn13	0,172	0,196	0,172	0,180	0,014
Kn14	0,237	0,245	0,227	0,236	0,009
Kn15	0,245	0,269	0,245	0,253	0,014
Kn16	0,237	0,219	0,23	0,229	0,009
Kn2	0,269	0,245	0,259	0,258	0,012
Kn3	0,24	0,237	0,244	0,240	0,004

Kn4	0,238	0,249	0,244	0,244	0,006
Kn5	0,254	0,266	0,27	0,263	0,008
Kn6	0,245	0,251	0,255	0,250	0,005
Kn7	0,249	0,248	0,251	0,249	0,002
Kn8	0,241	0,233	0,249	0,241	0,008
Kn9	0,221	0,197	0,222	0,213	0,014
Kr1	0,266	0,249	0,267	0,261	0,010
Kr2	0,251	0,269	0,258	0,259	0,009
Kr3	0,248	0,24	0,236	0,241	0,006
Kr4	0,241	0,238	0,244	0,241	0,003
Kr5	0,186	0,204	0,191	0,194	0,009
Kr6	0,24	0,245	0,249	0,245	0,005
Kr7	0,269	0,274	0,28	0,274	0,006
Kr8	0,209	0,249	0,239	0,232	0,021
Kt1	0,237	0,278	0,267	0,261	0,021
Kt2	0,249	0,241	0,248	0,246	0,004
Kt3	0,248	0,249	0,241	0,246	0,004
PONTEA 1	0,241	0,238	0,25	0,243	0,006
PROT 2	0,172	0,196	0,182	0,183	0,012
Prot N1	0,237	0,245	0,237	0,240	0,005
Prot N2	0,245	0,269	0,245	0,253	0,014
Prot T1	0,237	0,209	0,221	0,222	0,014

Appendice K

Tableau 01 : Phénotype de résistance des souches BLSE [182].

Antibiotiques	***Entérobactéries***	**Antibiotiques**	***Pseudomonas aeruginosa***	***Acinetobacter baumannii***
Aminopénicillines	R	Ticarcilline	R	R
Amoxicillines+ acide clavulanique	S/I/R	Ticarcilline + acide calvulanique	S/I/R	I/R
Carboxypénicillines	R	Pipercilline	I/R	R
Carboxypénicillines+ acide clavulanique	S/I/R	Pipercilline + Tazobactam	I/R	I/R
Uréidopénicilline	R	Cetazidime	I/R	R
Piperacilline+ tazobactam	S	Cefpirome	I/R	
Céphalosporines de 1ère génération	R	Cefepime	I/R	R
Céphalosporines de 2ème génération	R	Aztréonam	S/I/R	R
Céfoxitine	S	Imipenème	S	S
Céftazidime	S/I/R	Meropénème	S	S
Céfotaxime/ Céftriaxone	S/I/R			
Aztréonam	S/I/R			
Carbapénème	S			

Tableau 2 : Phénotype de résistance des souches à céphalosporines hyper produites [182].

Antibiotiques	***Entérobactéries***	**Antibiotiques**	***Pseudomonas aeruginosa***	***Acinetobacter baumannii***
Aminopénicillines	R	Ticarcilline	I/R	S/I
Amoxicillines+ acide clavulanique	R	Ticarcilline + acide calvulanique	R	S/I
Carboxypénicillines	I/R	Pipercilline	I/R	I/R
Carboxypénicillines+ acide clavulanique	I/R	Pipercilline + Tazobactam	I/R	I/R
Uréidopénicilline	I/R	Cetazidime	I/R	R
Piperacilline+ tazobactam	I/R	Cefpirome	I/R	
Céphalosporines de 1ère génération	R	Cefepime	I/R	I/R
Céphalosporines de 2ème génération	R	Aztreonam	I/R	R
Céfoxitine	S/I/R	Imepénèm	S	S
Céftazidime	S/I/R	Meropénèm	S	S
Céfotaxime/ Céftriaxone	S/I/R			
Aztréonam	S/I/R			
Carbapénème	S			

Appendice L

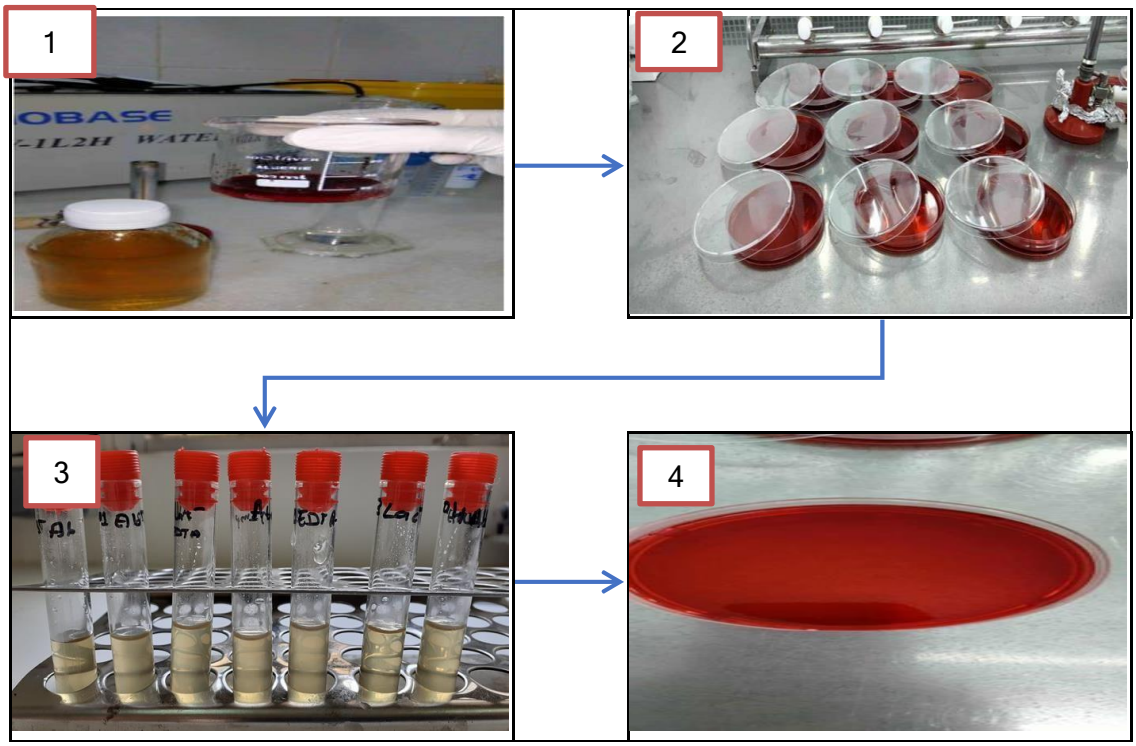

Figure 1: Procédé de mise en évidence du biofilm sur milieu rouge Congo.

1 : Préparation de la gélose et le colorant **, 2 :** Coulage du milieu sur les boites **3 :** Culture bactérienne en tubes**, 4 :** Ensemencement sur milieu

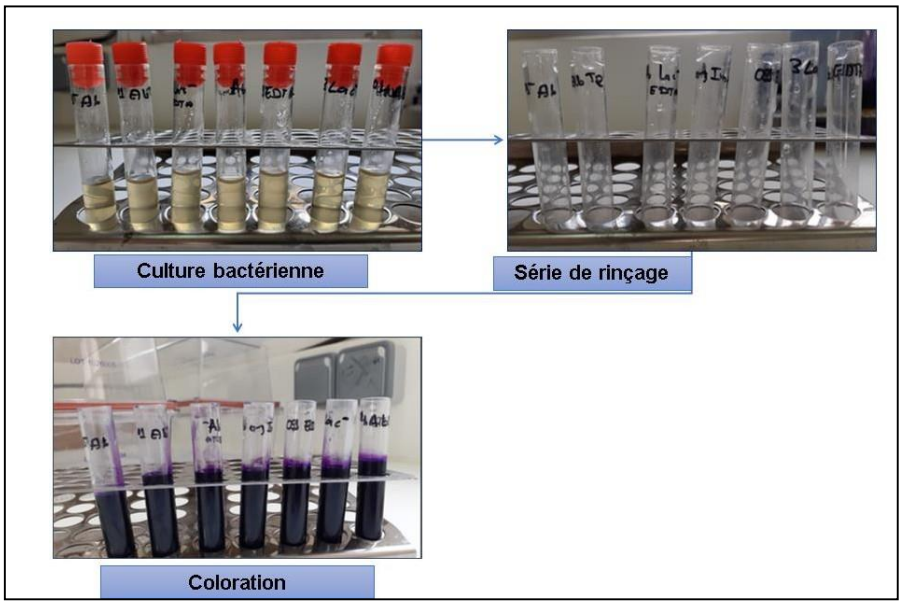

Figure 2: Procédé de mise en évidence du biofilm par la technique du tube.

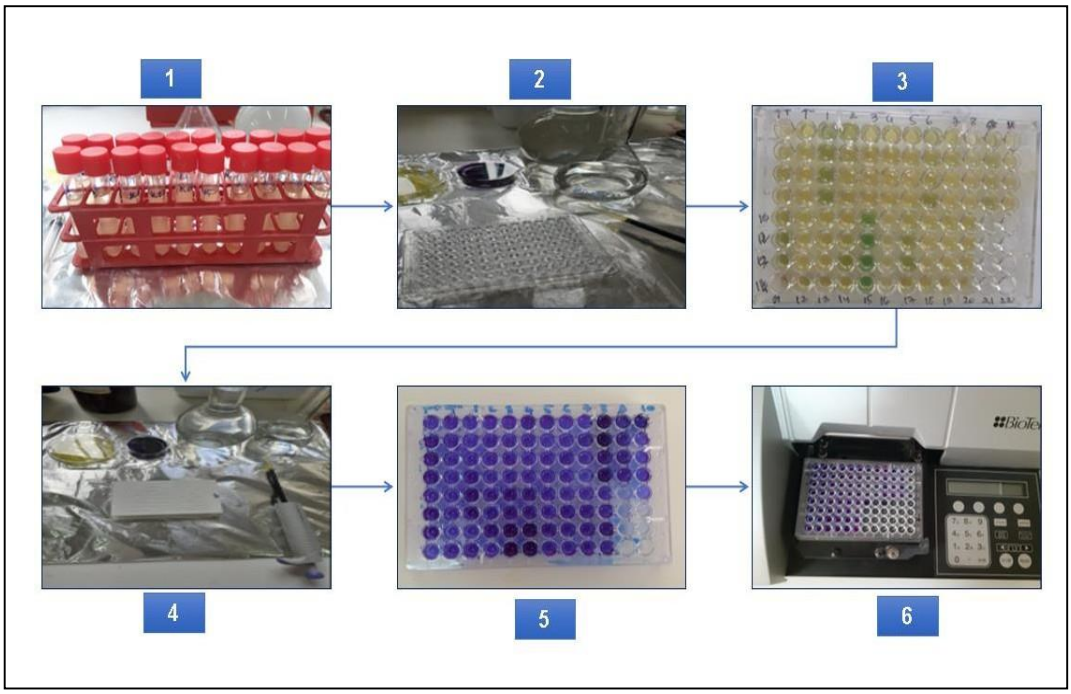

Figure 3: Procédé de mise en évidence du biofilm par la technique de la microplaque.

1 : Culture bactérienne en tube, **2 :** transfère des dilutions sur la microplaque, **3 :** culture bactérienne sur microplaque, **4 :** rinçage et fixation, **5 :** coloration, **6 :** lecture des microplaques

Appendice M

Dans l'unité de soins intensifs d'un hôpital public du sud-ouest d'Alger pendant 1 an. Quatre-vingt-six isolats cliniques non dupliqués ont été prélevés à partir d'une variété d'échantillons cliniques, y compris des plaies chirurgicales, du sang, de l'urine, des plaies et des pointes de cathéter, dans le cadre d'un laboratoire hospitalier de routine.

Tableau 1. Distribution d'*A. baumannii* isolées clinique à partir d'unités de soins intensifs

Échantillons cliniques	Numéro	%
Plaie	1	**(3) (33)**
Chirurgie	22	**(73,3)**
Pus	1	**(3) (33)**
Sang	2	**(6) (66)**
Urine	2	**(6) (66)**
Cathéter	**2**	**(6) (66)**

Tableau 2. Profil de résistance d'*A. baumannii* clinique

Antibiotiques	**Sensibilité clinique *n* (%)**
Amikacine	**24 80**
Ceftazidime	**29 (96,7)**
Gentamicine	**30 (100)**
Imipénème	**28 (93,3 %)**
Lévofloxacine	**26 (86,7)**
Méropénème	**28 (93,3 %)**
Pipéracilline	**30 (100)**
Sulfaméthoxazole / Triméthoprime	**28 (93,3 %)**
Ticarcilline + acide clavulanique	**30 (100)**
Tobramycine	**30 (100)**

Tableau 3: Répartition des résistotypes des *A. baumannii* cliniques

Résistotypes	Résistance aux antimicrobiens	Isolats cliniques *n* (%)
I	AMK/CAZ/Gen/IMP/LVX/MEM/PIP/SXT/TCC/TOB	22 (73
II	CAZ/Gen/IMP/LVX/MEM/PIP/SXT/TCC/TOB	3 (10)
III	CAZ/Gen/IMP/MEM/PIP/SXT/TCC/TOB	1 (3.33)
IV	CAZ/Gen/PIP/SXT/TCC/TOB	2 (6.66)
V	AMK/CAZ/Gen/IMP/MEM/PIP/SXT/TCC/TOB	1 (3.33)
VI	AMK/CAZ/Gen/IMP/LVX/MEM/PIP/TCC/TOB	1 (3.33)

Notes : AMK = amikacine ; CAZ = ceftazidime ; GEN = gentamicine ; IMP = imipénème ; LVX = lévofloxacine ; MEM = méropénème ; PIP = pipéracilline ; SXT = sulfaméthoxazole/triméthoprime ; CCT = ticarcilline + acide clavulanique ; TOB = tobramycine