

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département De Biologie

Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière Sciences Biologique

Option : Microbiologie

Thème

**Etude des bactéries (BGN) multirésistantes à partir des échantillons
provenant de l'environnement hospitalier**

Présenté par :

Date de soutenance : 14/07/2022

- Mlle Haddouche Asma
- Mlle Fernane Aicha

Devant le jury :

Mme ZEROUTI K.	MCB/USDB1	Présidente
Mme OUAHCHIA C.	MAB/USDB1	Examinatrice
Mme HAMAIDI-CHERGUI F.	Professeur/USDB1	Promotrice
Mme BOULESNAM S.L.	Doctorante/USDB1	Co-promotrice

Promotion: 2021-2022

Remerciements

Dans un premier temps on remercie le bon dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble de membre de jury :

*Nous tenons à gratifier **Mme Zerouti** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire*

*Nous adressons nos vifs remerciements à **Mme ouahchia** pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.*

*Notre remerciement s'adresse également à notre promotrice **Mme Hamaidi** et notre Co-promotrice **Mme Boulesnam** pour leurs encadrements, leurs orientations, leurs conseils et leurs disponibilités qu'elles ont témoignés pour nous permettre de mener ce travail.*

*Nous remercions beaucoup le responsable de laboratoire d'hygiène de Tipaza **Dr.Letlout** pour son bon accueil et a **madame Akkache** et toute l'équipe de laboratoire pour son aide et son soutien.*

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont Participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail a

Ma chère mère ma force qui m'encourage toujours dans ma vie et son soutien tout au long des années d'étude, si je suis là c'est bien grâce à toi mon bon exemple

Mon cher père, ma source d'encouragement et de force qui a été toujours présent pour moi dans les périodes difficiles

Que dieu vous donne une longue vie et vous protège pour nous

A mes frères et sœurs

Abd el Malek, abd slam, fatima zohra et maria que dieu vous garde

A mes chères grand-mère que je leur souhaite une longue vie et santé

A mes tantes et oncles

A mes cousines et mes cousins

A mes meilleurs amis Meriem, Manel, Racha, Selma et Insaf

A mon cher binôme Aicha

A toute la promotion de Microbiologie

Asma

Dédicace

Mes très chers Parents et mes Sœurs Djahida et Rahma qui ont cru en moi, m'ont fait confiance et respectés mes choix. Je les remercie vraiment pour leurs sacrifices, leurs amours, leurs encouragements et surtout pour leur soutien moral.

A ma famille,

A mes tantes et oncles

A mes cousines et mes cousins

A mes chères amies Insaf et Selma

A mon cher binôme Asma

A toute la promotion de Microbiologie

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de réussite.

Aicha

Liste des tableaux

Tableau I. Zones de risques dans les hôpitaux.....	3
Tableau II. Nomenclature actuelle de la famille <i>Enterobacteriaceae</i>	6
Tableau III. Nomenclature de l'espèce <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
Tableau IV. Nomenclature de l'espèce <i>Acinetobacter baumannii</i>	11
Tableau V. Sites et nombres pour chaque prélèvement... ..	21
Tableau VI. Antibiotiques testés contre les entérobactéries.	27
Tableau VII. Antibiotiques testés contre <i>Pseudomonas</i> et <i>Acinetobacter</i>	27
Tableau VIII. Résultats de l'identification d' <i>Enterobacter cloacea</i>	32
Tableau IX. Résultats de l'identification de <i>Serratia fecasia</i>	33
Tableau X. Résultats de l'identification d' <i>Ewingella americana</i>	34
Tableau XI. Résultats de l'identification de <i>Cedecea lapagie</i>	35
Tableau XII. Résultats de l'identification de <i>Burkholderie cepacia</i>	36
Tableau XIII. Résultats de l'identification de <i>Shigella spp</i>	37
Tableau XIV. Résultats de l'identification de <i>Raoutella orithiolytica</i>	38
Tableau XV. Résultats de l'identification de <i>Pasteurella multocida</i>	39
Tableau XVI. Résultats de l'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Tableau XVII. Résultats de l'identification d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	42
Tableau XVIII. Fréquence de bactéries isolées	44
Tableau XIX. Répartition des bactéries isolées à partir des surfaces selon les sites	46

Liste des figures

Figure 1: Organigramme des différentes étapes d'identification	23
Figure02 : répartition des résultats des prélèvements	30
Figure 03 : coloration de Gram des entérobactéries G(X100)	31
Figure 04 : Nappe de <i>Proteus</i> sur milieu gélose nutritive.....	40
Figure 05: Répartition des souches isolées dans les différents unités.....	43
Figure 06 : Réparation des bactéries avant et après la désinfection.....	48
Figure 07 : Taux de résistance des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques testés	49
Figure 08 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>Raoutella ornithiolytica</i>	49
Figure 09 : Taux de résistance des <i>Pseudomonas</i> vis-à-vis des ATB testés	50
Figure 10 : Zone d'inhibition des antibiotiques testés chez <i>Pseudomonas</i>	51
Figure 11 : Taux de résistance des <i>Acinetobacter</i> vis-à-vis aux antibiotiques testés.....	52
Figure 12 : Répartition de la résistance des entérobactéries selon les unités	53
Figure 13 : Répartition de la résistance des <i>Pseudomonas</i> selon les unités... ..	54
Figure 14 : Répartition de la résistance des <i>Acinetobacter</i> selon les unités.....	55
Figure 15 : Répartition des bactéries résistantes et multirésistantes	56
Figure 16 : Répartition des bactéries productrices selon le test de double disque... ..	57
Figure 17: Résultats de test double disque	58
Figure 18 : Résultat de test de l'EDTA	59
Figure 19 : Formation de biofilm avant et après la désinfection... ..	60
Figure 20 : Formation de biofilm chez <i>Proteus spp</i> avant et après la désinfection	60

Liste des abréviations

- **ADH** : Arginine déshydrogénase.
- **AMY** : Amygdaline.
- **API** : Analytical profil index.
- **ARA** : Aabinose.
- **BGN** : Bacilles à Gram négatif.
- **BHIB** : Brain heart infusion broth.
- **BLSE** : β -lactamases à spectre élargi.
- **BMR** : Bactéries multi- résistantes.
- **C3G** : Céphalosporines de troisième génération.
- **CDC** : Center for disease control and prevention.
- **CIT** : Citrate.
- **CLSI** : Clinical and laboratory standards institute.
- **EBLSE** : Entérobactéries productrices de β - lactamases à spectre élargi.
- **ECA** : Enterobacterial Common Antigen.
- **EDTA** : Ethylène-diamine-tétra-acétique.
- **GEL** : Gélatinase.
- **GLU** : Glucose.
- **H₂S** : Thiosulfate de sodium.
- **IND** : Indole.
- **INO** : Inositol.
- **KPC** : klebsiella pneumoniae carbapenemase.
- **LDC** : Lysine décarboxylase.
- **LPS** : les lipopolysaccharides.
- **MAN** : Mannose.
- **MBL** : métallo β -lactamase.
- **McF** : Mac Farland.
- **MEL** : Mélibiose.
- **ODC** : Ornithine décarboxylase.
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé.

- **ONPG** : L'orthonitrophényl- β -galactoside (ou 2-nitrophényl- β -D-galactopyrannoside).
- **OXA** : Oxacillinases.
- **RHA** : Rhamnose.
- **SAC** : Saccharose.
- **SOR** : Sorbitol.
- **TDA** : Tryptophane désaminase.
- **URE** : Urée.
- **VP** : Voges-Proskauer.

RESUME

La propagation dans les hôpitaux de bactéries résistantes aux antibiotiques est inquiétante pour la santé publique. L'environnement hospitalier peut être colonisé par ces bactéries multirésistantes et provoquent des infections nosocomiales difficiles à traiter.

120 échantillons ont été prélevés à partir des surfaces proches des patients au niveau de plusieurs unités se rattachant au service de maternité dans un hôpital de la wilaya de Blida durant une période allant du mois de mars 2022 jusqu'au mois de juin 2022.

Les résultats étaient positifs dans 71% des cas répartis comme suit : 70% dans la salle d'accouchement, 15% dans la salle post partum, 13% dans la salle de circoncision., et 2% dans la salle de soin.

38% des souches bactérienne isolées sont des bacilles à Gram négatif. Les entérobactéries étaient majoritaires avec un taux de 78% (n=25), les *Pseudomonas* avec un taux 16% (n=5) et un pourcentage de 6% (n=2) pour les *Acinetobacter*.

L'antibiogramme à démontrer l'existence des souches résistantes dont 64% des entérobactéries sont résistantes à l'AZT, 60% à la CTX. Un taux de résistance était de 24% pour la NA, 23% pour l'AMX, 8% vis-à-vis de la C et une résistance de 4% vis-à-vis à la CIP et à la GEN. Pour les *Pseudomonas*, 100% des souches résistaient à la TI, 60% résistai à la TCC et un taux de 20% pour la CAZ. Les *Acinetobacter* résistaient à la CAZ et à la TCC avec un taux de 100%.

Les tests complémentaires nous ont permis de déceler des souches productrice de BLSE de classe A, les entérobactéries représentaient 47%, les *Pseudomonas* avec un taux de 80% alors que les *Acinetobacter* avec un taux de 100%. Avant la désinfection, les bactéries BGN formatrices de biofilm étaient représentées par un taux de 58%, après la désinfection, il y eu régression de ce taux à 3%.

Mots clés : Environnement hospitalier, Bactéries multirésistantes, Résistance aux ATB, Biofilms, Désinfection.

Abstract

The spread of antibiotic-resistant bacteria in hospitals is a public health concern. The hospital environment can be colonized by these multiresistant bacteria and cause nosocomial infections that are difficult to treat.

120 samples were taken from the areas near the patients at several units connected to the maternity ward in a hospital of the wilaya of Blida during a period from March 2022 to June 2022.

The results were positive in 71% of cases distributed as follows: 70% in the delivery room, 15% in the post partum room, 2% in the treatment room, and 13% in the circumcision room.

38% of the bacterial strains isolated were gram-negative bacilli, *Enterobacteriaceae* were the majority with a rate of 78% (n=25), *Pseudomonas* with a rate of 16% (n=5) and a percentage of 6% (n=2) for *Acinetobacter*.

The antibiogram showed the existence of resistant strains of which 64% of the *Enterobacteriaceae* are resistant to AZT, 60% to CTX, a rate of resistance of 24% for NA, 23% for AMX, 8% for C and a resistance of 4% to CIP and GEN. For *Pseudomonas*, 100% of the strains are resistant to TI, 60% to TCC and 20% to CAZ. Then *Acinetobacter* are resistant to CAZ and TCC with a rate of 100%.

The complementary tests allowed us to detect strains producing class A ESBL of which *Enterobacteriaceae* represent 47%, *Pseudomonas* with a rate of 80% while *Acinetobacter* with a rate of 100%. Before disinfection, biofilm-forming GNB bacteria were represented by a rate of 58%, after disinfection, this rate decreased to 3%.

Key words: Hospital environment, Multi-resistant bacteria, Antibiotic-resistant, Biofilm Disinfection.

ملخص

يعد انتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية في المستشفيات مصدر قلق للصحة العامة. يمكن استعمار بيئة المستشفى بواسطة هذه البكتيريا متعددة المقاومة، مسببة عدوى المستشفيات يصعب علاجها.

120 عينة تم اخذها من المناطق القريبة من المرضى في عدة وحدات متصلة بجناح الولادة في مستشفى بولاية البليدة خلال الفترة الممتدة من مارس الى 2022 جوان 2022 كانت النتائج ايجابية في 71% من الحالات، موزعة على النحو التالي: 70% في غرفة الولادة ، 15% في غرفة ما بعد الولادة ، 2% في غرفة العلاج ، و 13% في غرفة الختان.

38% من السلالات البكتيرية المعزولة هي عصيات سلبية الغرام البكتيريا المعوية *Enterobacteriace* كانت اغلبها بمعدل 78% (عدد 25) و تمثل سلالة *Pseudomonas* نسبة 16% (عدد 5)، و نسبة 6% (عدد 2) بالنسبة لسلالة *Acinetobacter*.

أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية وجود سلالات مقاومة، حيث 64% من سلالة *Enterobacteriace* مقاومة لـ AZT ، 60% لـ CTX ، يليها NA بنسبة 24%، و 23% بالنسبة لـ AMX، و 8% ضد C ، 4% مقاومة لكل من CIP و GEN بالنسبة لـ *Pseudomonas*، فإن 100% من السلالة مقاومة لـ TI، و 60% مقاومة لـ TCC، و 20% لـ CAZ. و تقاوم *Acinetobacter* لكل من CAZ و TCC بمعدل 100%.

سمحت لنا الاختبارات التكميلية باكتشاف السلالات المنتجة للبيتاكتاماز ذات الطيف الموسع BLSE من الدرجة A بحيث ان سلالة *Enterobacteriace* تمثل 47% منها، و 80% بالنسبة لسلالة *Pseudomonas*. بينما *Acinetobacter* بمعدل 100%. قبل التطهير تم تمثيل العصيات سلبية الغرام المكونة للغشاء الحيوي البيوفيلم بمعدل 58%. بعد التطهير انخفض هذا المعدل الى 3%.

الكلمات المفتاحية : البيئة الاستشفائية ، بكتيريا متعددة المقاومة ،مقاومة المضادات الحيوية ، البيوفيلم، التطهير.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction 1

PARTIE BIBLIORAPHIQUE

I. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER ET INFECTIONS NOSOCOMIALES 3

I .1. Transmission des BMR dans l'environnement hospitalier 4

I .2. Mesure de prévention..... 4

I .2.1. Environnementales 4

I .2.2. Individuelles 5

II. BACILLES GRAM NEGATIF FERMENTAIRES..... 6

II.1. Entérobactéries 6

II .1.1. Taxonomie 6

II .1.2. Habitat..... 6

II .1.3. Caractéristiques bactériologiques	6
II .1.4. Germes retrouvés dans le milieu hospitalier.....	8
III. BACILLE GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES	9
III.1. <i>Pseudomona</i>	9
III .1.1.Taxonomie.....	10
III .1.2.Caractéristiques bactériologiques.....	10
III .1.3. Habitat et pouvoir pathogène	10
III.2. <i>Acinetobacter baumannii</i>	11
III .2.1.Taxonomie.....	11
III .2.2.Caractéristiques bactériologiques.....	11
III .2.3. Pouvoir pathogène.....	12
IV. Antibiorésistance.....	12
IV .1. Types de résistance bactérienne aux antibiotiques.....	12
IV .1. 1. Résistance naturelle	12
IV .1. 2. Résistance acquise	12
IV .1. 3. Résistance croisée	13
IV .2. Mécanisme de résistance enzymatique	13
IV .2. 1. Bêtalactamases.....	13
IV .2. 2. Carbapénémases.....	14
IV .2. 3. Enzymes inactivant les aminosides.....	14
IV .3. Mécanismes de résistance non enzymatique.....	14
IV .3. 1. Efflux actif	14
IV .3. 2. Modification de cible	14
IV .3. 3. Diminution de perméabilité	15

IV .4. Antibiorésistance chez les entérobactéries.....	15
IV .4. 1. Antibiorésistance chez <i>Escherichia coli</i>	15
IV .4. 2. Antibiorésistance chez <i>Klebseilla pneumoniae</i>	15
IV .4. 3. Antibiorésistance chez <i>Serratia</i>	16
IV .4. 4. Antibiorésistance chez <i>Proteus</i>	16
IV .4. 5. Antibiorésistance chez le complexe <i>Enterobacter</i> (ECC)	16
IV .4. 6. Antibiorésistance chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
IV .4. 7. Antibiorésistance chez <i>Acinetobacter baumannii</i>	18
IV .5. Résistance adaptative /Biofilm.....	18

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES.....	20
I .1. Matériel	20
I .1.1 . Matériel biologique.....	20
I .1.2 . Matériel non biologique	20
I .2. Méthodes	20
I .2.1. Type de prélèvement.....	20
I .2.2. Méthode de prélèvement.....	22
I .2.3. Isolement et purification	24
I .2.4. Coloration de Gram	24
I .2.5. Identification biochimique.....	25
I .2.6. Antibiogramme	26
I .2.7. Tests complémentaires.....	28
II. RESULTATS ET DISCUSSION	30
II.1. Répartition des résultats selon les prélèvements effectués	30

II.2 Résultats de l'identification	31
II.2.1 Enterobacteriaceae.....	31
II.2.2 Résultats de l'identification de Pseudomonas aeruginosa.....	41
II.2.3 Résultats de l'identification d'Acinetobacter baumannii	42
II.3 Répartitions des bactéries selon la coloration de Gram.....	43
II.4 Répartition des résultats selon les unités de prélèvement.....	43
II.5 Répartition des bactéries Gram négatif.....	44
II.6 Répartition des bactéries isolées selon les sites	45
II.7 Réparation des bactéries avant et après désinfection.....	47
II.8 Résultats de l'Antibiorésistance	48
II.8.1 Antibiorésistance chez les entérobactéries	48
II.8.2 Antibiorésistance chez les Pseudomonas	50
II.8.3 Antibiorésistance chez Acinetobacter	51
II.9 Répartition de la résistance selon les unités de prélèvements	52
II.9.1 Répartition de la résistance des Enterbacteriaceae selon les unités de prélèvements	52
II.9.2 Répartition de la résistance des Pseudomonas selon les unités de prélèvements.....	53
II.9.3 Répartition de la résistance des Acinetobacter selon les unités.....	54
II.10 Répartition des bactéries résistantes et multi résistantes	56
II.11 Tests complémentaires	57
II.11.1 Répartition des bactéries productrice de BLSE selon la technique de double disque	57
II.11.2 Répartition des bactéries selon la production des carbapénémases.....	58
II.11.3 Répartition des bactéries selon la formation de biofilm.....	59

CONCLUSION..... 62

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXE.

Introduction

INTRODUCTION

L'environnement hospitalier est un réservoir des bactéries multirésistantes. Depuis plus de 20 ans, il est considéré comme la plus importante source d'infections nosocomiales à cause de la contamination des surfaces autour des patients suite au manque d'hygiène (**Lopez-Cerero,2013**).

Les infections nosocomiales également connue sous le nom d'infection hospitalière sont des infections contractées par des patients hospitalisés ,causées par des bactéries, des champignons, des virus et des parasites. Elles représentent un problème majeur de santé publique et socio-économique courant dans les hôpitaux du monde entier, causant des séjours hospitaliers plus longs et une mortalité plus élevée chez les patients touchés, en particulier dans les pays en voie de développement (**Askarian et al.,2013**). Les patients atteints d'infections nosocomiales peuvent transmettre l'infection à d'autres patients, augmentant ainsi le risque de propagation d'un type d'agent invasif dans la communauté (**Zhang et al.,2017**).

Les bactéries Gram négatif (BGN) ont un rôle très important dans les différentes infections communautaires et nosocomiales. Ces bactéries se divisent on deux grands groupes, les BGN fermentaire et non fermentaires (**INSPQ, 2022**). Les plus retrouvées dans le milieu hospitalier sont le groupe des entérobactéries (BGNF) : *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, et *Proteus Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*, et le groupe des BGN NF comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (**Ben Abdallah et al., 2005**) (**Liassine, 2000**).

Due à la pression de la sélection impliquée par l'utilisation accru des antibiotiques, une variété de mécanisme de résistance sont apparus suite à la mobilisation et le transfert horizontal d'une large gamme de gènes de résistance aux antibiotiques qualifiant ces bactéries à des niveaux remarquables de résistance à plusieurs famille d'antibiotiques (**Khodare et al.,2020 ; Alcock et al.,2019**). Ces bactéries sont dites BMR lorsqu'elles sont résistantes à trois classes d'antibiotiques ou plus utilisées en même temps dans le traitement clinique par des mécanismes intrinsèques ou extrinsèques. (**Giuffrè et al .,2016**).

La résistance aux antimicrobiens est une crise croissante en médecine clinique, c'est pour cela que l'OMS a établi un classement des principaux pathogènes bactériens résistants aux antibiotiques pour lesquels il serait nécessaire de trouver et de développer de nouveaux antibiotiques. Parmi ces pathogènes, les bacilles à Gram négatif qui représentent le groupe le plus critique résistants aux carbapénèmes et aux céphalosporines de troisième génération (OMS, 2017).

Cette résistance se fait par une autre manière lorsqu'il s'agit de bactéries formatrices de biofilm qui sont des communautés microbiennes composées de cellules noyées dans une matrice de substances polymères extracellulaires et qui ont été associés à un large éventail d'infections nosocomiales (Schillaci *et al.*, 2010).

Les biofilms protègent les bactéries envahissantes contre le système immunitaire de l'hôte (Cramton *et al.*, 1999) et augmentent également leur résistance contre les antibiotiques conventionnels d'environ 1000 fois (Bjarnsholt *et al.*, 2009).

Egalement, les cellules du biofilm subissent un taux de mutation plus élevé, ce qui entraîne une multiplication par 10 de l'efficacité du transfert du plasmide ayant un gène de résistance aux antibiotiques, lorsque le biofilm est exposé à une concentration sub létale de cet antibiotique (Ma et Bryers, 2013).

L'émergence de ces germes nécessite des enquêtes de prévalence dans un contexte épidémique (Denis F *et al.*, 2016).

Dans le but de prévenir l'échec thérapeutique et de diminuer le risque de mortalité, cette étude a pour but de rechercher les *Enterobacteriaceae*, les *Pseudomonas* et les *Acinetobacter* multirésistantes, qui peuvent être probablement associés à des infections nosocomiales dans le service de maternité, à partir d'échantillons provenant de différents sites de prélèvement de surface dans un hôpital de la Wilaya de Blida. Les objectifs que nous nous sommes fixés sont :

- Isolement, purification et identification biochimique des BGN.
- Tester les bactéries isolées vis à vis des différents antibiotiques pour déterminer leurs profil résistance.
- Identifier le taux des bactéries formatrices de biofilm

Partie
Bibliographique

Cet environnement hospitalier peut contaminer les patients et être à l'origine d'infections nosocomiales.

Ces infections sont généralement catégorisées en 13 types selon leur site d'infection, qui sont spécifiés en fonction de leurs critères cliniques et biologiques (Nimer ,2022). Les plus courantes sont :

- Infections du flux sanguin associées aux cathéters centraux (CLABSI).
- Infections des voies urinaires associées au cathéter (CAUTI).
- Infections du site opératoire (ISO).
- Pneumonie assistée par ventilateur (PAV).

Le risque n'est pas limité seulement à ceux qui sont infectés mais l'infection peut être transmise à d'autres patients, augmentant ainsi le risque de propagation d'un type d'agent invasif dans la communauté (Zhang *et al.*,2017).

I.1 Transmission des BMR dans l'environnement hospitalier

Elle se fait soit d'une manière directe par le patient lui-même à travers le microbiote soit d'une manière indirecte par manuportage grâce aux mains des personnels soignants ou de visiteurs (Duval ,2019). L'hospitalisation d'un patient précédemment infecté ou porteur des BMR favorise l'acquisition de cette résistance dont le risque varie selon l'espèce bactérienne (Ajao *et al.*, 2013). L'environnement hospitalier est un réservoir qui représente l'un des témoins de manque d'hygiène hospitalière (Talon ,1999).

I.2 Mesure de prévention

I.2.1 Environnementales

La désinfection et la méthode de nettoyage varie selon la position géographique de l'établissement de santé, le sol et les types de surfaces.

- Le nettoyage : se fait dans 4 zones selon la vulnérabilité des patients (tableau voir annexe)
- Usage d'eau chaude /surchauffée comme alternative pour certains objets comme les linges
- Désinfection et stérilisation de matériel qui est utilisable par le patient afin de détruire tous les microorganismes (Duval ,2019).

Après la sortie du patient de l'hôpital, il faut désinfecter la chambre par un nettoyage terminal qui consiste à la désinfection des surfaces inertes (Owens et Rice ,2006).

I.2.2 Individuelles

Elles se réalisent par : la décontamination des mains qui se fait avant/après avoir touché le patient, après un contact avec un liquide biologique, et avant un acte antiseptique (OMS,2009), et par l'hygiène personnel, le port de tenues vestimentaires, le port de gant et de masque, l'isolement géographique et le Cohorting qui veut dire qu'il y a un personnel soignant spécial pour les patients porteurs de BMR pour éviter le contact avec les autres patients (Duval ,2019).

II. BACILLES GRAM NEGATIF FERMENTAIRES

II.1 Entérobactéries

Les entérobactéries sont des bactéries qui colonisent le tube digestif des animaux et de l'homme. Elles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* qui contiennent une variété de genres. Ce sont des bacilles à Gram négatif non-exigeants, mobiles / immobiles, non sporulés, aérobies-anaérobies facultatives. Ils fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, oxydase négatif et catalase positif (Delarras,2007).

II.1.1 Taxonomie

Les relations phylogénétiques entre les genres de cette famille sont fondées sur l'analyse des séquences de l'ARNr 16S.

Tableau II. Nomenclature actuelle de la famille *Enterobacteriaceae*

Règne	<i>Eubacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

(Bergey,2004)

II.1.2 Habitat

Les entérobactéries sont des hôtes de tube digestif de l'homme et de nombreux animaux ou ils sont retrouvés soit à l'état pathogène soit à l'état commensal. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive. On les retrouve également dans l'environnement (sol, eau) où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à la dégénérescence ou à un ramollissement (Hart ,1997).

II.1.3 Caractéristiques bactériologiques

✚ Caractères morphologiques

Les entérobactéries mesurent de 2 à 3 µm de longueur et 0.5 µm de largeur, la plupart qui possèdent des pili communs et des fimbria qui représentent les facteurs d'adhésions sont considérés comme des pathogènes pour l'homme (Delarras,2007).

✚ Caractères Cultureux

Les entérobactéries considérées comme non-exigeantes. Elles poussent sur des milieux ordinaires *in vitro* sans facteurs de croissance. La température optimale de la croissance est de

37°C comme elles peuvent aussi poussées à des températures plus au moins extrême (20 et 40°C). Les entérobactéries présentent plusieurs aspects de colonie :

- **Les formes S (Smooth)** : les colonies sont bombées, lisses, humides et brillantes, c'est généralement la forme habituelle et sont de 2 à 4 mm de diamètre.
- **Les formes R (Rough)** : se trouvent après plusieurs repiquages des souches, les colonies sont sèches, rugueuses, avec un contour de teinte mate et irrégulier, cette forme est trouvée chez les *Klebsiella* dont leur diamètre peut dépasser les 10mm et on les rencontre aussi chez des *Salmonella paratyphi B*. Les formes R donnent un aspect grumeleux lors de l'utilisation de bouillon.
- **Les colonies naines** : se trouvent chez des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques (**Delarras,1998**).

+ Caractères biochimiques

L'identification des entérobactéries est basée sur les caractères biochimiques par l'utilisation des tests pour reconnaître : la fermentation des sucres, le métabolisme protéique, l'utilisation de citrate comme seule source de carbone, la production de H₂S, la présence des enzymes et dégagement de gaz. (Tableau : voir annexe). Les caractéristiques communes des entérobactéries sont :

- Elles fermentent le glucose et sont des aéro anaérobie facultatives.
- Elles assurent la réduction de nitrate en nitrites et parfois même la réduction de ce dernier en diazote dans le cas des *Klebsiella* ou parfois non comme *Yersinia* et *Shigella*, et elles possèdent la catalase et dépourvus d'oxydase (**Delarras,2007**).

+ Caractères antigéniques

La plupart des espèces d'entérobactéries présentent un antigène commun appelé antigène de Kunin ou ECA (Enterobacterial Common Antigen) (**Khayar, 2011**).

Il existe trois catégories d'antigènes :

- **Les antigènes O** : qui correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) et qui constituent les endotoxines des bactéries à Gram négatif.
- **Les antigènes H** : ce sont des antigènes flagellaires qui se trouvent seulement chez les espèces mobiles.
- **Les antigènes K** : ces antigènes capsulaires sont généralement composés d'une couche externe polysaccharidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux. (**Kayser et al .,2016**).

II.1.4 Germes retrouvés dans le milieu hospitalier

✚ *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) est l'espèce la plus répandue du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux vertébrés (**kaper et al., 2004**). En tant que commensal, elle vit en symbiose avec ses hôtes. Toutefois, elle est également l'un des agents pathogènes les plus courants, car elle est responsable d'une grande variété de maladies (**Allocati et al., 2013**).

Les *E. coli* pathogènes sont responsables de nombreuses grandes épidémies de diarrhée infantile, de diarrhée sanglante, de cystite, de pyélonéphrite, de méningite etc... Identifié comme l'agent pathogène à l'origine de maladies infectieuses, comme le nouveau *E. coli* producteur de toxines Shiga (**Liu et al., 2019**). Ces souches peuvent être séparées en deux grands groupes en fonction du type d'infection, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) avec des sous-groupes pour chacun (**Ségoène , 2016**). Les souches de *E. coli* uropathogènes (UPEC) qui sont responsables 80 % des infections des voies urinaires expriment plusieurs facteurs de virulence (**Kaper et al., 2004**).

✚ *Klebsiella*

Klebsiella sont des bactéries immobiles et capsulées. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*, germe très répandu dans la nature (sol et eau). Elle forme d'épais faisceaux de structure fibrillaire couvrant la surface bactérienne en couche épaisse et dense qui protège la bactérie de la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles, d'une part de l'effet bactéricide de facteurs sériques et d'autre part les souches exprimant les antigènes capsulaires K1 et K2 qui sont particulièrement virulentes dans un modèle murin de péritonites comparées à d'autres sérotypes qui sont peu ou pas virulents (**Arafa et al., 2009**). Considérée comme un agent pathogène opportuniste fréquemment infectant les patients en état critique et immunodéprimés et impliquée aussi dans les infections associées aux soins (**Berrazeg et al., 2013**) (**Hennequin et Forestier, 2007**).

✚ *Serratia*

Serratia marcescens représente l'espèce type de genre *Serratia*, mobile, acapsulée mais certaines études ont montré que la capsule peut être formée quand les souches sont cultivées en anaérobiose sur un milieu de culture qui contient de faibles quantités de nitrogène et de phosphate (**Martha Embrey et al., 2004**).

Elle est présente de manière ubiquitaire dans l'environnement, chez les humains et les animaux et l'environnement hospitalier (**Saralegui et al., 2020**). C'est le troisième agent

pathogène à l'origine d'infections opportunistes et nosocomiales (Cristina *et al.*,2019). Au cours des quatre dernières décennies, *Serratia* a été à l'origine d'épidémies multiclonaux, à propagation rapide et chronique (Maltezou *et al.*,2012).

Proteus

Proteus sont très répandus dans la nature, mobile polymorphe, représentés par l'espèce type *Proteus mirabilis* (Avril ,2000). Ils végètent en saprophytes sur la peau et les muqueuses, et sont les hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux (Hart ,1997). Ils sont responsables d'infection urinaire dans 90% des cas, lié aux pathologies gastro intestinales comme les gastro entérites, maladie de crohn, aussi des maladies hépatobiliaires et pancréatiques et des infections nosocomiales et autre extra intestinales comme les infections respiratoires ,auriculaires etc... .Plusieurs facteurs de virulence sont responsables de cette diversité de pathologies (Hamilton *et al.*, 2018).

Enterobacter cloacae complexe (ECC)

Ce complexe est formé par des bactéries opportunistes qui se trouvent dans l'environnement (sol/eau), les plantes, les animaux et dans la flore normale de l'intestin chez l'homme à l'état commensal (Akbari *et al.*,2016). L'espèce type est *Enterobacter cloacae* touche souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par des antibiotiques et peuvent être à l'origine d'infections urinaires, de pneumonies ainsi que d'infections cutanées (Dioman,2008).

III. BACILLE GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES

Ce sont des bactéries aérobies strictes. On retrouve essentiellement les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* ainsi que d'autres espèces appartenant aux genres: *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, et *Achromobacter* (Martin ,2011).

III.1 Pseudomonas

Le genre *Pseudomonas* regroupe plus de 140 espèces dont les principales sont *Pseudomonas aeruginosa* (espèce type) isolé la première fois par GESSARD (Eyquem *et al.*, 2000).

Caractérisé par des colonies de couleur vert de gris, il dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production du pigment (Eyquem *et al.*,2000).

III.1.1 Taxonomie

Leur classification est résumée dans le tableau suivant :

Tableau III. Nomenclature de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*

Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Bergey,2004)

III.1.2 Caractéristiques bactériologiques

Bacille gram négatif, de 0.5 à 1.3 µm de diamètre, mobile par ciliature polaire, aérobie stricte, non sporulé, et non exigeant, il produit deux pigments hydrosolubles qui s'appellent la pyoverdine (jaune vert) qui est un sidérophore et la pyocyanine (bleu) dont ils assurent un rôle dans la virulence de la bactérie.

Il est pourvu d'une oxydase, une ADH, une nitrate réductase, une gélatinase, une uréase, et une licitinease qui ne peut être révélée qu'en milieu liquide, et aussi il ne fermente pas les sucres (Eyquem *et al* ,2000)

III.1.3 Habitat et pouvoir pathogène

C'est une bactérie ubiquitaire qui se retrouve chez l'humain, le sol, l'eau, les milieux humides, les égouts, et le milieu hospitalier. Cette variété d'habitat est expliquée par la capacité d'adaptation et la présence de métabolisme polyvalent.

Ce germe opportuniste qui peut évoluer vers l'état pathogène et provoque des infections sévères (Spiers *et al.*,2000). Il est à l'origine de pneumonies associées à la ventilation, des infections urinaires et de la circulation sanguine et aussi des infections chroniques et cause chez les immunodéprimés des septicémies (Parkins et Somayaji , 2018).

III.2 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter est un genre très diversifié avec plus de 50 espèces, dont la majorité sont des organismes environnementaux (Al Atrouni *et al.*, 2016). Celle qui est impliquée le plus dans les infections est *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) considéré comme l'espèce type de ce genre (Hochman et Phillips, 2020).

Un groupe de quatre génoespèce biochimiquement identiques connus sous le nom de complexe *Acinetobacter -baumannii/calcoaceticus*, formé par *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter pittii* et *Acinetobacter nosocomialis* (Kornelsen et Kumar, 2021).

III.2.1 Taxonomie

Leur classification est résumée dans le tableau suivant :

Tableau IV : Nomenclature de l'espèce *Acinetobacter baumannii*

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Moraxellaceae</i>
Genre	<i>Acinetobacter</i>
Espèce	<i>Acinetobacter baumannii</i>

(Doughari *et al.*, 2011)

III.2.2 Caractéristiques bactériologiques

A. baumannii est un coccobacille à Gram négatif, non mobile, non exigeant, oxydase-négatif, catalase-positif, aérobie non fermentaire (Lin *et al.*, 2014). Il se retrouve dans les environnements humides, y compris les sols, les zones humides et même l'eau de mer (Al Atrouni *et al.*, 2016). Avec une capacité de se changer morphologiquement contribuant probablement à sa persistance (Wong *et al.* 2017). Selon Fournier et Richet (2006), *A. baumannii* a une survie sur une surface solide dans les unités hospitalières après des mois, voire des années.

III.2.3 Pouvoir pathogène

En raison de sa capacité à persister dans l'environnement clinique, *A. baumannii* est l'espèce la plus courante du complexe *Acinetobacter -baumannii/calcoaceticus* représentant le taux le plus élevé des infections nosocomiales, y compris les infections de la peau et des tissus mous chez des patients souffrant de brûlures, de blessures ou de traumatismes graves, les infections des voies urinaires associées aux cathéters, la pneumonie associée à la ventilation (PAV), la méningite et la bactériémie (Hochman et Phillips, 2020.). Avec une densité d'infection intense dans les unités de soins intensifs (Wong *et al.*, 2017).

IV. Antibiorésistance

Une souche est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Faure, 2009).

La multirésistance aux antibiotiques est une conséquence provoquée par l'utilisation massive des antibiotiques comme traitement chez l'homme et l'animal. Le contact des bactéries avec les antibiotiques provoque une capacité d'adaptation à la pression exercée par ces antibiotiques grâce à des mutations chromosomiques ou l'acquisition de matériel génétique étranger qui s'accumulent dans une bactérie par les transmissions croisées et des cycles successifs de pression de sélection entraînant une multi-résistance aux antibiotiques et des impasses thérapeutiques (Jarlier, 2019).

IV.1 Types de résistance bactérienne aux antibiotiques

IV.1.1 Résistance naturelle

Cette résistance se trouve dans toutes les souches de la même espèce d'une manière permanente et d'origine chromosomique, stable et transférable par la division cellulaire à la descendance, mais elle n'est jamais transférable à une autre bactérie (transmission horizontale) (Carle, 2009).

Elle se manifeste par : une modification de la cible ou absence de cette cible ou une diminution de perméabilité par exemple (Nounci, 2019).

IV.1.2 Résistance acquise

Cette résistance est observée chez les souches généralement sensibles à un antibiotique donné, qui se fait par une mutation chromosomique ou par un transfert génétique à partir

d'une autre bactérie, ce qui provoque une diminution de sensibilité en vers la molécule toxique (Aboya Moroh,2013).

IV.1.3 Résistance croisée

On parle de résistance croisée, lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre composé par un seul et même mécanisme biochimique (Muylaert et Mainil ,2012) .

IV.2 Mécanisme de résistance enzymatique

Elle se fait par la sécrétion d'enzyme qui assure la désactivation des antibiotiques même avant la pénétration au sein de microorganisme (Babic *et al.*,2006).

Ce phénomène a été observé pour la première fois dans les années 1950 pour la pénicilline par la production d'enzyme qui hydrolyse ces molécules qui s'appelle les bêta lactamases, aussi par la modification de la cible et les pompes à efflux (Nicolas-Chanoine *et al.*, 2008).

IV.2.1 Bêtalactamases

Les β -lactamases à spectre élargi, groupe hétérogène d'enzymes bactériennes présentant une affinité augmentée pour diverses β -lactamines (Volkov ,2018). Ils hydrolysent ces antibiotiques par l'ouverture du cycle β -lactame et sont inhibées par les inhibiteurs de la β -lactamase (Chong *et al.*, 2018).

Ambler a classé les bêta lactamases en 4 classes :

- Classe A qui contient les EBLSE de type TEM, SHV, CTX-M et certaines carbapénémases (KPC, GES, SME).
- Classe B : qui sont les métallos bêtalactamases représentées par les carbapénémases VIM, IMP.
- Classe C qui contient les AmpC céphamycinases chromosomique.
- Classe D représenté par les AmpC plasmidique, les EBLSE OXA et les carbapénèmes Oxa (Pitout, 2010).

Les EBLSE sont sensibles aux céphamycines et sont inhibées par les inhibiteurs de beta lactamine et aussi par BLBLI Classique comme l'amoxicilline-acide clavulanique, l'ampicilline-sulbactam, la pipéracilline-tazobactam, la ticarcilline-sulbactam et le céfopérazone-sulbactam (Rodríguez-Baño *et al.*,2018).

IV.2.2 Carbapénémases

Les BGN résistantes aux carbapénèmes provoquent non seulement des infections graves notamment les infections des voies urinaires, la septicémie, l'endocardite, la méningite et les infections intra-abdominales graves (**Rodríguez-Baño et al.,2018**). Mais elles entraînent des hospitalisations plus longues, des coûts de santé plus élevés et une mortalité accrue que les infections bactériennes sensibles aux carbapénèmes (**Lutgring,2019**). Il existe plusieurs méthodes de résistance aux carbapénèmes, essentiellement par la synthèse des enzymes carbapénémases y compris la carbapénémase de *Klebsiella pneumoniae* de classe A , les métallob- β -lactamases de classe B et les β -lactamases de classe D OXA, qui sont codées par de nombreux génotypes et qui peuvent être transférable (**Diène et Rolain ,2014**).

La résistance peut également être développée par des pompes d'efflux, des changements de perméabilité causés par la perte de porine de membrane externe ou par des mutations (**Ruppé et al.,2015**).

IV.2.3 Enzymes inactivant les aminosides

Il y a trois classes d'enzymes pouvant inactiver les aminosides : les acétyl-transférases, les nucléotidyle – transférases et les phospho-transférases. Chaque enzyme possède donc son profil de substrat et va par conséquent donner naissance à un profil de résistance aux aminosides. Les gènes codant pour ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (**Bouyahya et al.,2017**).

IV.3 Mécanismes de résistance non enzymatique

IV.3.1 Efflux actif

C'est un système d'excrétion utilisé par les bactéries pour diminuer la concentration des produits toxiques comme les antibiotiques, suite à une expression de transporteur actif (pompe) (**Nikaido,2009**).

Ce mécanisme est répandu et efficace pour la diminution d'activité de la quasi-totalité des antibiotiques (**Webber et Piddock,2003**), causant une résistance croisé chez les BGN suite au contact répété avec ces antibiotiques (**Hernando Amado et al.,2016**).

IV.3.2 Modification de cible

Ce mécanisme se manifeste par une modification partielle de la nature de la cible, un changement total, une hyperproduction de la cible ou parfois plusieurs modifications associées due à une mutation ou par acquisition de gène (**Nounci.2019**).

IV.3.3 Diminution de perméabilité

Observer essentiellement chez les BGN suite à la présence de la membrane externe qui entraîne une résistance naturelle par l'inhibition de la pénétration des antibiotiques hydrophobes, et qui ont une grande masse moléculaire comme : pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, vancomycine (**Figueiredo ,2011**).

Cette barrière est formée essentiellement par les porines qui ne laissent passer que les antibiotiques hydrophiles de faible masse moléculaires (**Paolozzi et Liébart, 2015**) . Lors d'une mutation des porines, il y aura une inhibition de passage de ces molécules hydrophiles grâce à une diminution de quantité ou par une modification structurale (**Kumar et Schweizer , 2005**) .

IV.4 Antibiorésistance chez les entérobactéries

IV.4.1 Antibiorésistance chez *Escherichia coli*

E. coli résiste de manière inhérente aux pénicillines G, le premier β -lactame introduit dans la pratique clinique, en raison de sa barrière membranaire externe. *E. coli* est également résistante à plusieurs classes différentes d'antibiotiques avec des mécanismes d'action distincts (**Johnson et al., 2012**) (**Erb et al.,2007**) .

Les β -lactamases sont le plus souvent produites par les *Enterobacteriaceae* en général et par *E. coli* en particulier constituent une large classe d'enzymes, qui sont souvent codées sur des plasmides. Ils confèrent une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines et sont une cause émergente de multirésistance chez les bactéries Gram-négatives (**Allocati et al.,2013**) .

E. coli peut acquérir d'autres traits de résistance aux médicaments à partir de bactéries environnementales et l'inverse, il peut propager ses gènes de résistance à des agents pathogènes potentiels dans différents habitats (**Da Costa et al.,2013**) .

IV.4.2 Antibiorésistance chez *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est l'une des nombreuses bactéries qui ont attiré l'attention en raison de l'augmentation spectaculaire de la résistance aux antibiotiques au cours des dernières décennies (**Bengoechea et Pessoa, 2019**). Elle comprend une résistance aux fluoroquinolones, aux céphalosporines de troisième génération et aux aminoglycosides, avec une résistance supplémentaire aux carbapénèmes (**ECDC,2018**).

Chez *K. pneumoniae*, la résistance à certains antibiotiques est intrinsèque car l'enzyme est codée dans le noyau du génome de l'espèce comme certaines β -lactamines. Tandis que d'autres font partie du génome accessoire notamment les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Bengoechea et Pessoa,2019).

Les carbapénèmes ont généralement été le médicament de choix pour les bactéries productrices de BLSE, mais une résistance aux carbapénèmes est apparue chez *K. pneumoniae* et qui est principalement induite par le génome accessoire (Bengoechea et Pessoa,2019). La résistance aux carbapénèmes peut être médiée en partie par la régulation à la hausse des pompes d'efflux (Filgona *et al.*, 2015). Et l'altération des porines de la membrane externe dans le noyau du génome (Kaczmarek *et al.*, 2006). Et par l'hyperproduction d'enzymes BLSE ou AmpC β -lactamases dans le génome accessoire (Bush et Jacoby, 2010).

IV.4.3 Antibiorésistance chez *Serratia*

S. marcescens présente une résistance chromosomique et plasmidique à un large éventail d'antibiotiques, notamment les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ou plus particulièrement les métallo β -lactamase (MBL) (Iguchi *et al.* ,2014).

Les MBL posent un problème majeur, car elles sont très résistantes à une gamme plus large de β -lactamines (Cristina *et al.*,2019).

IV.4.4 Antibiorésistance chez *Proteus*

Les espèces de *Proteus* ont une résistance naturelle à plusieurs antibiotiques, parmi eux la polyamine (colistine) (Olaitan *et al.*,2014), nitrofurane, la tigécycline, et la tétracycline (Qin *et al.*,2015),

Des souches résistantes aux antibiotiques sont de plus en plus signalées grâce au développement de mécanismes de résistance. L'espèce type *P. mirabilis* résiste aux imipénèmes grâce à une acquisition de gène dont les gènes de carbapénémases, elle secrète des BLSE et des céphalosporinases AmpC (Girlich *et al.*,2020).

IV.4.5 Antibiorésistance chez le complexe *Enterobacter* (ECC)

Les *ECC* résistent aux antibiotiques d'une manière naturel et acquise ce qui à provoquer une diminution de traitement efficace des infections. Elles résistent naturellement à la pénicilline, aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération par une céphalosporinases de

type AmpC (classe C) d'origine chromosomique et résistent aux céphalosporines de 3^{ème} génération par une mutation qui génère des AmpC de forte expression (**Cheng et al., 2017**). Elles résistent aux bêta lactamines et l'aztreonam par l'intermédiaire d'un plasmide qui assure la production des BLSE dans le cas d'hospitalisation et chez les patients déjà traités par les antibiotiques (**Peirano et al., 2018**).

Elles résistent de la même façon aux aminoglycosides (**Neonakis et al., 2003**).

Ces bactéries sont résistantes aux carbapénèmes par l'acquisition de plasmide qui provoque une surexpression d'AmpC qui sont : bêta lactamase a serine et métallobeta lactamase, et provoque une perturbation de perméabilité membranaire (**Chavda et al., 2016**).

IV.4.6 Antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*

Les *P. aeruginosa* résistent naturellement à plusieurs antibiotiques comme les bêta lactamines, les aminoglycosides, les tétracyclines et certaines fluoroquinolones par une diminution de la perméabilité de la membrane externe représentée par la diminution de nombre de porines et même par les pompes à efflux pour limiter l'entrée des antibiotiques. On trouve aussi des souches qui résistent aux carbapénèmes grâce à un manque d'une porine qui s'appelle la porine OprD (**De Sousa et al., 2021**).

Grâce à l'expression de bêta lactamases AmpC, ces germes assurent une faible résistance aux aminopenicillines et aux céphalosporines induisent fortement la production d'AmpC, qui par conséquent hydrolyse ces substrats (**Lister et al., 2009**).

Suite à l'acquisition de gènes BLSE, ils peuvent également produire des β -lactamases à spectre étendu (BLESE) qui confèrent un degré élevé de résistance à la majorité des antibiotiques β -lactamines, y compris les pénicillines et les céphalosporines (**Rawat et Nair, 2010**). Ils résistent aussi aux polymyxines B par la production de glycopeptides dans les cas de stress phosphorylé (**Jones et al., 2021**).

Bien que l'acquisition de gènes de résistance ne soit pas courante chez les *P. aeruginosa*. Il a été démontré qu'elles acquièrent des carbapénémases codées par un plasmide (métallobêta-lactamases simples) qui peuvent hydrolyser la plupart des β -lactamines, y compris les carbapénèmes (**Umadevi et al., 2011**).

IV.4.7 Antibiorésistance chez *Acinetobacter baumannii*

Au début, les souches d'*Acinetobacter* étaient sensibles à la plupart des antibiotiques, notamment l'ampicilline, la carbénicilline, l'acide nalidixique et la gentamicine, (**Bergogne-Bérézin et Towner,1996**). Mais au cours des dernières décennies le complexe de *A.baumannii* a développé une résistance à la fois intrinsèque et acquise aux nombreux antibiotiques courants, tels que les pénicillines, les céphalosporines et les aminoglycosides (**Said et al ., 2021**).

L'OMS et le CDC ont classé *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes comme un pathogène hautement prioritaire résistant aux antibiotiques (**CDC, 2019**) (**Tacconelli et al.,2017**).

Comme la plupart des BGN, *A.baumannii* , possède plusieurs mécanismes de résistance enzymatiques (**Roy et al.,2022**).y compris :la production des β -lactamases de classe A qui sont capables d'hydrolyser les céphalosporines (**Naas et al., 2016**).

Les β -lactamases de classe B, la principale raison de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* avec les oxacillinases (**Roy et al.,2022**), les β -lactamases de classe C , un autre mécanisme de résistance aux C3G (**Hamidian et al.,2014**). Et finalement, les β -lactamases de classe D ou les oxacillinases, hydrolysent généralement l'isoxazolylpénicilline et l'oxacilline (**Jeon et al.,2015**).

Ainsi que des mécanismes non enzymatiques notamment la diminution de l'expression de plusieurs porines, les pompes à efflux, modifications des sites de liaison des antibiotiques et la formation de biofilm (**Roy et al., 2022**).

IV.5 Résistance adaptative /Biofilm

Les biofilms sont des communautés microbiennes mono ou multi-espèces (Une gamme variée de micro-organismes, bactéries Gram-positives et Gram-négatives, mobiles et non mobiles, aérobies, anaérobies et facultatives, et champignons) (**Hyun Koo et al.,2017**). Enfermées dans une matrice polymérique extracellulaire qui est un élément crucial dans la formation du biofilm (**Singh et al.,2022**).

La formation de biofilm est un facteur de virulence clé pour un large éventail de micro-organismes qui causent des infections chroniques et nosocomiales, environ 80% de ces infections (**Hyun Koo et al.,2017**).

Au sein d'un biofilm, les bactéries sont protégées et tolérantes aux antibiotiques, aux antiseptiques, aux antimicrobiens et aux réponses immunitaires de l'hôte (**Banerjee et al.,2020**). Il est reconnu également comme un réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques (**Olsen et al.,2015**) qui favorise le transfert de ces gènes (**Hyun Koo et al.,2017**).

Les *P. aeruginosa* résistent aux antibiotiques, aux défenses de l'hôte et aux désinfectants par le développement d'un biofilm robuste provoquant des infections chroniques hautement récalcitrantes qui représente un problème médical important (**Lee yoon,2017**) (**Yan wu,2019**).

Les souches cliniques de *A. baumannii* ont une meilleure capacité à former un biofilm sur des surfaces abiotiques que les souches non cliniques. Cette capacité est considérée comme un facteur important contribuant aux infections chroniques (**Acobs et al.,2014**). Et qui sont plus difficiles à traiter lors de la formation d'un biofilm et peuvent être transmissibles facilement d'un patient à l'autre, ce qui rend les épidémies difficiles à contrôler (**Roy et al.,2022**).

Partie
Expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES

L'analyse microbiologique des échantillons prélevés à partir de l'environnement hospitalier a été réalisée au niveau de l'unité de bactériologie et parasitologie médicale du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Tipaza durant une période s'étalant du mois de Mars à Juin 2022.

Le service concerné est un service de maternité composé de plusieurs unités qui sont : salle d'accouchement, bloc opératoire, salle de circoncision, salle de soin, chambre de malade (ou post-partum) situé dans un établissement hospitalier dans la wilaya de Blida.

Au total, 120 échantillons sont concernés par cette étude.

I.1 Matériel

I.1.1 Matériel biologique

Est représenté par les prélèvements et les souches de références : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae*.

I.1.2 Matériel non biologique

Représenté essentiellement par les appareillages, les milieux de cultures, les réactifs et la verrerie (Voir annexe).

I.2 Méthodes

Pour l'isolement et l'identification des bactéries, nous avons suivi les étapes suivantes :

I.2.1 Type de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés par la méthode d'écouvillonnage qui consiste à frotter une surface à l'aide d'un écouvillon préalablement humidifié dans un bouillon nutritif. Le détail de cet échantillonnage est présenté dans le tableau suivant :

Tableau V. nombres de prélèvement pour chaque site.

Lieux de prélèvement	Site de prélèvement	Nombre de prélèvement
Bloc opératoire	Table opératoire (02)	14 prélèvements
	Poignet de porte (02)	
	Chariot de médicament (02)	
	Syalitique (02)	
	Table d'instrument (02)	
	Respirateur (02)	
	Bocal d'aspiration (02)	
Salle d'accouchement	Point d'eau (03)	62 prélèvements
	Poignet de porte (04)	
	Chaise (03)	
	Séparateur(02)	
	Fenêtre (03)	
	Bureau et chaise (03)	
	Lits (05)	
	Literie (03)	
	Table et scope (03)	
	Instrument (03)	
	Lit mobile(02)	
	Couveuse (03)	
	Balance (03)	
	Chariot de médicament (03)	
	Table d'instrument (01)	
	Mur (03)	
	Rideaux(03)	
	Interrupteur (04)	
	Source vide et oxygène(04)	
	Syalitique (02)	
Potence (02)		
Salle de soin	Armoire (01)	05 prélèvements
	Brancard (01)	
	Tensiomètre (01)	
	Bureau et chaise (01)	
Salle de circoncision	Point d'eau (02)	24 prélèvements
	Poignet de porte (02)	
	Séparateur(02)	
	Fenêtre (02)	
	Lits (02)	
	Literie (02)	
	Table et scope (02)	
	Chariot de médicament (02)	
	Mur (02)	
	Rideaux(02)	
	Interrupteur (02)	
	Source vide et oxygène(02)	

Post-partum	Fenêtre (01)	15 prélèvements
	Rideaux (01)	
	Lits (03)	
	Literie (01)	
	Lit mobile (01)	
	Mur (01)	
	Potence (01)	
	Source vide et oxygène (01)	
	Placard (01)	
	Table de malade (02)	
	Interrupteur (01)	
	Poignet de porte (01)	

La désinfection a été réalisée au niveau de la salle d'accouchement, la salle de circoncision et le bloc opératoire une fois pour chacune, dans le but de comparer entre les résultats obtenus avant et après la désinfection dans les différents sites (poignée de porte, lits, point d'eau...) des trois unités.

I.2.2 Méthode de prélèvement

Les prélèvements de surface ont été réalisés par la technique d'écouvillonnage afin de chercher les germes dans les zones plane et non plane et dans les zones à accessibilité difficile.

Les écouvillons stériles sont humidifiés à l'extrémité dans le milieu BHIB (milieu bouillon de cœur-cervelle). Par l'extrémité des écouvillons et sur une surface, on trace des stries parallèles rapprochées puis perpendiculaire dans la même zone, en faisant tourner les écouvillons légèrement entre le pouce et l'index. On remet les écouvillons prélevés dans les tubes de BHIB puis on les transmet au laboratoire pour incubation pendant 24h à 37°C.

La figure suivante illustre les principales étapes du protocole expérimental réalisé dans cette étude.

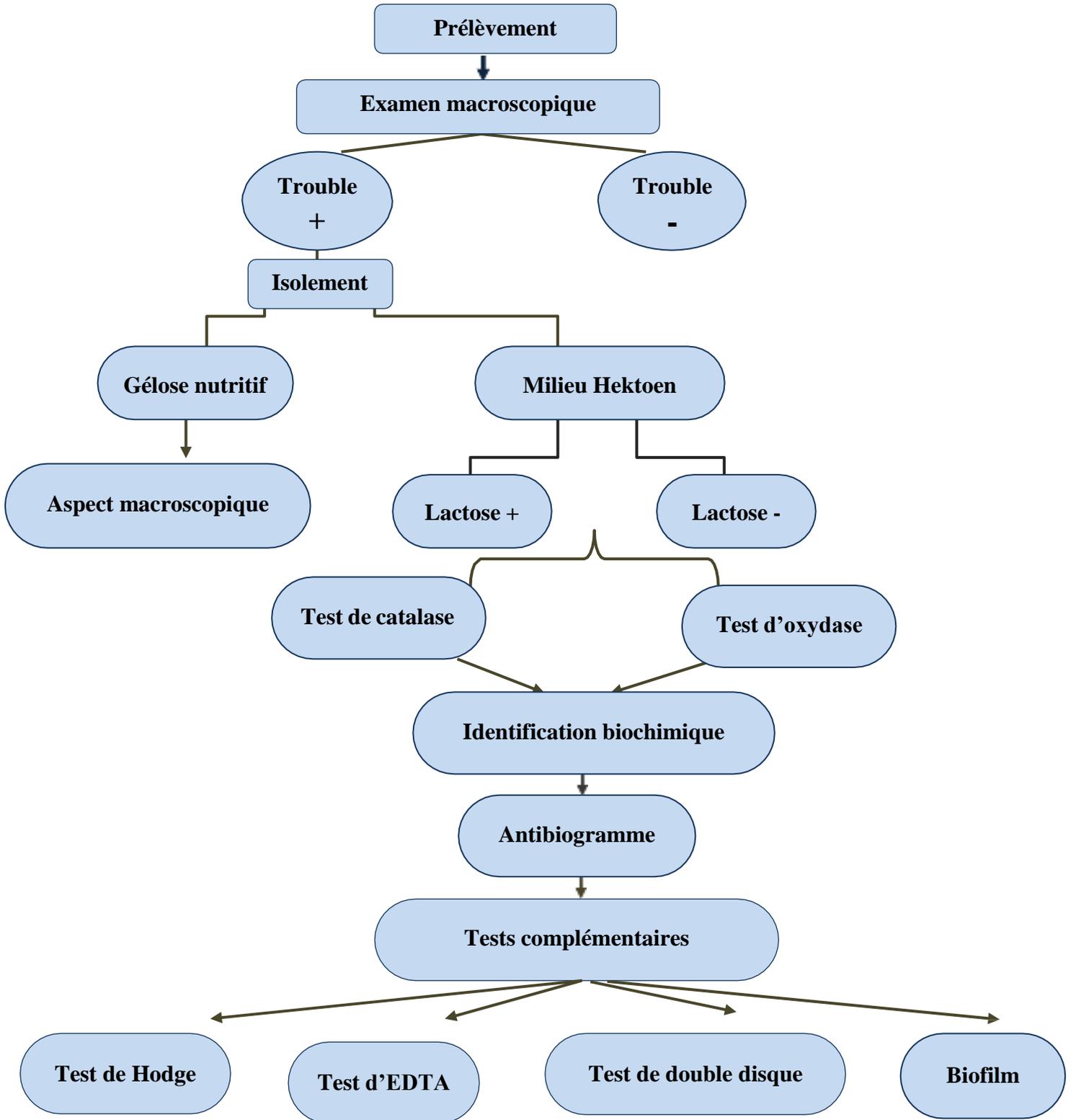


Figure 1: Organigramme des différentes étapes d'identification.

Après incubation, on fait une observation macroscopique des tubes, qui consiste à déterminer l'absence ou la présence de trouble. Sa présence indique une croissance bactérienne.

I.2.3 Isolement et purification

L'isolement a été réalisé à partir des tubes présentant un trouble sur 3 milieux de cultures, il s'agit de la gélose nutritive(GN), la gélose hektoen (HK) et la gélose Mac conkey .

L'ensemencement a été fait à l'aide de pipettes Pasteur stériles boutonnées après avoir prélevé une goutte, en faisant dans la première partie de la boîte de pétrie des stries serrées puis des stries éloignées dans l'autre partie de la boîte. Les boîtes seront incubées pendant 24h à 37°C. La purification se fait par le repiquage sur le même milieu jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

I.2.4 Coloration de Gram

C'est la coloration qui permet de déterminer les caractéristiques de la paroi bactérienne, afin de distinguer entre les Gram négatif et les Gram positifs. Les bactéries Gram négatif sont riches en lipide et pauvres en peptidoglycane (20%). Tandis que les bactéries Gram positif sont pauvres en lipides et riche en peptidoglycane (80%).

La réalisation de frottis se fait comme suit :

- On étale une goutte de suspension bactérienne sur la lame et on la fait sécher à la flamme (fixation).
- Recouvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir 1 minute.
- Rincer brièvement à l'eau.
- Recouvrir de lugol et laisser agir 1 minute.
- Rejeter le lugol.
- Décolorer à l'alcool jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis.
- Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- Recouvrir la lame de Fushine diluée et laisser agir 1 minute.
- Laver à l'eau et laisser sécher à l'air ou entre 2 feuilles de papier filtres.
- Observation au microscopique avec une goutte d'huile à immersion objectif X100.

Les bactéries Gram négatif apparaissent en rose et les bactéries Gram positif apparaissent en violet.

I.2.5 Identification biochimique

Galerie classique

➤ Test catalase

Cette enzyme catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en H_2O et $\frac{1}{2} O_2$ qui est un produit très toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries. La réaction est caractérisée par un dégagement de gaz.

Avec une pipette boutonnée, on prélève une colonie et on la dépose dans une goutte d'eau oxygénée préalablement déposée sur une lame propre.

Lecture : observation immédiate

- Catalase + : dégagement de bulle d' O_2
- Catalase - : absence de bulle d' O_2

➤ Oxydase

La mise en évidence de cette oxydase est effectuée en présence de chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine qui forme un complexe violet au contact de cette enzyme.

A l'aide d'un disque prêt à l'emploi, imprégné du réactif N-diméthyl paraphénylène diamine, on dépose une colonie parfaitement isolée et on l'écrase sur le disque.

Lecture : observation immédiate

- Coloration de disque en violet : oxydase + / Disque incolore : oxydase -.

Galerie miniaturisée API 20E

C'est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et les bacilles à gram négatif non fastidieux, elle est composée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés qui représentent les tests biochimiques.

Les microtubes sont remplis de suspension bactérienne pour faire le test, et après incubation on observe un virage de couleur spontané ou après addition de réactifs.

- **Préparation de la galerie**

Remplir le fond de la boîte d'incubation (alvéole) par l'eau distillé pour humidifier la galerie, puis déposer la galerie dans la boîte stérilement.

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure de 18 à 24h, on prélève quelques colonies isolées et identiques à partir de milieu gélosé, puis les mettre dans 5ml d'eau distillée stérile afin de réaliser une suspension bactérienne de 0.5 McF.

- **Inoculation de la galerie**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile et une poire, on introduit la suspension bactérienne dans les microtubes en plaçant la pointe de la pipette sur le côté de microbe et en inclinant la galerie vers l'avant pour éviter l'apparition des bulles d'air.

Pour les test, ADH, ODC, LDC, H₂S et urée, en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline pour la création d'anaérobiose.

Pour le test CIT, VP et GEL remplir le tube et la cupule.

Pour les autres tests remplir les cupules seulement.

Renfermer la boîte et incuber pendant 24h à 37°C.

Après incubation ajouter les réactifs :

Indole : Kovacs TDA : réactif TDA VP : réactif VP1/VP2 (10 min pour la lecture).

Lecture : voir annexe

I.2.6 Antibiogramme

C'est un test in vitro qui permet de déterminer la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. Dans cette étude, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé. Nous avons suivi la méthode de standardisation de l'antibiogramme publiée par le CLSI et recommandée par l'OMS.

Cette technique consiste à utiliser les disques en papier imprégné dans différents antibiotiques à concentration déterminée, dont on dépose les disques sur la surface d'un milieu de gélose MULLER HINTON (MH) précédemmentensemencée par une suspension

bactérienne calibré. Après incubation de 24h à 37°C, diffusion des antibiotiques dans la gélose, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne.

✚ Conditions d'un antibiogramme standard

Le milieu de culture : gélose MULLER HINTON avec une épaisseur de 4mm.

L'inoculum est une suspension bactérienne de 0.5McF ou d'une DO de 0.08-0.10 lue à 625 nm.

Antibiotiques : Les tableaux suivant présentent les antibiotiques testés et leur charge.

Tableau VI. Antibiotiques testés contre les entérobactéries.

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µm)	Famille
Céfotaxime	CTX	30	β- lactamine
Amoxicilline	AMX	10	
Céfazoline	CZ	30	Céphalosporine
Gentamycine	GEN	10	Aminoside
Ciprofloxacine	CIP	5	Fluoroquinolones
Chloramphénicol	C	30	Phénicolés
Aztréonam	AZT	30	Monobactame
Acide nalidixique	NA	30	Quinolones

Tableau VII. Antibiotiques testés contre *Pseudomonas* et *Acinetobacter*.

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µm)	Famille
Céftazidime	CAZ	30	Céphalosporine
Pipéracilline	PRL	100	β- lactamine
Ticarcilline + acide Clavulanique	TCC	85	
Ticarcilline	TI	75	
Gentamycine	GEN	10	Aminoside
Tobramycine	TOB	10	
Ciprofloxacine	CIP	5	Fluoroquinolones

I.2.7 Tests complémentaires

Test de Hodge

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

- ❖ Un inoculum de densité égale à 0.5Mc Farland dilué au 1/10 de la souche *E. coli* ATCC est ensemencé par écouvillonnage à la surface d'une gélose MH parfaitement sèche.
- ❖ Déposer un disque d'ertapénème au centre de la boîte ensemencée.
- ❖ Ensemencer les souches en stries radiales à partir de colonie :
 - ✓ Souche témoin positif *Klebsiella pneumoniae*,
 - ✓ Souche témoin négatif *E. coli* ATCC,
 - ✓ Souche à tester.
- ❖ Incuber à 35°C pendant 16 à 20 heures.

N.B : Le test de Hodge est abandonné pour le *Pseudomonas aeruginosa* et l'*Acinetobacter baumannii* (selon le CLSI 2019).

Lecture :

Le test est considéré positif lorsqu'on observe une repousse de la souche indicatrice le long de la strie de la souche à tester.

Test de l'EDTA

Ce test permet de mettre en évidence les bactéries productrices de carbapénèmases de classe B (les métallo- β -lactamases) . Ces bactéries possèdent du zinc au niveau de leur site actif et peuvent être inhibées par l'EDTA qui est un chélateur de zinc.

Nous avons suivi les étapes suivantes :

- ❖ Préparer une suspension de la souche à tester en eau physiologique stérile (inoculum 0,5 Mc Farland),
- ❖ A l'aide d'un écouvillonne stérile, on ensemence la suspension sur une gélose MH parfaitement sèche.
- ❖ Pour les entérobactéries : déposer sur la gélose les disques des imipénème (10 μ g) et imipénème + EDTA (à défaut déposer 10 μ l d'une solution de EDTA 0,1M sur un disque d'imipénème)

- ❖ Et CAZ + EDTA et IMP +EDTA pour *Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp*.
- ❖ Incuber pendant 18 à 24 heures à 35°C

Lecture : le test est considéré positif si :

Une différence ≥ 5 mm entre les deux zones d'inhibition autour des disques imipénème + EDTA et imipénème est observée.

Double disque

- ❖ On fait un ensemencement sur le milieu gélose MULLER HINTON de la même façon qu'un antibiogramme standard,
- ❖ Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX / CAZ) à une distance de 30mm
- ❖ Laisser diffuser les antibiotiques pendant 1h à température ambiante dont la boîte sera déposée couvercle vers le haut
- ❖ Après l'achèvement d'une heure d'incubation, enlever le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX/ CAZ.
- ❖ Incuber la boîte de 16-18h à 35°C.

Lecture

Le test est positif quand le diamètre de zone d'inhibition autour de C3G appliqué après diffusion de disque d'AMC est supérieur au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G seul (CLSI, 2020).

Test de biofilm

Ce test consiste à utiliser la méthode gélose rouge Congo pour indiquer la production de biofilm grâce à une réaction qui se fait entre les exopolysaccharides formés par les bactéries et le rouge Congo.

Nous avons suivi les étapes suivantes :

- ❖ A partir d'une culture jeune, on prélève quelques colonies isolées et identiques à l'aide d'une pipette Pasteur stérile
- ❖ Ensemencer les colonies par 3 stries (du plus serré vers l'éloigné)
- ❖ Incuber pendant 24h à 37°C

Lecture

- Colonie noire avec cristallin de consistance sèche : il y a production de biofilm.
- Colonie rouge : absence de formation de biofilm.

Résultats
et
discussion

II. RESULTATS ET DISCUSSION

Durant une période d'étude allant du mois de Mars jusqu'au mois de juin 2022, 120 échantillons ont été prélevés à partir de plusieurs sites de l'environnement hospitalier au niveau de plusieurs unités appartenant au service de maternité dans un hôpital situé dans la wilaya de Blida.

Les résultats après culture, isolement et identification sont mentionnés dans ce chapitre.

II.1 Répartition des résultats selon les prélèvements effectués

Sur un total de 120 échantillons provenant de l'environnement des différentes unités composant le service de maternité, prélevés dans des tubes de BHIB et incubés pendant 24h à 37°C, 85 écouvillons présentaient un trouble et étaient positifs avec un pourcentage de 71%. Tandis que 35 prélèvements étaient négatifs avec un pourcentage de 29%. Figure (02).

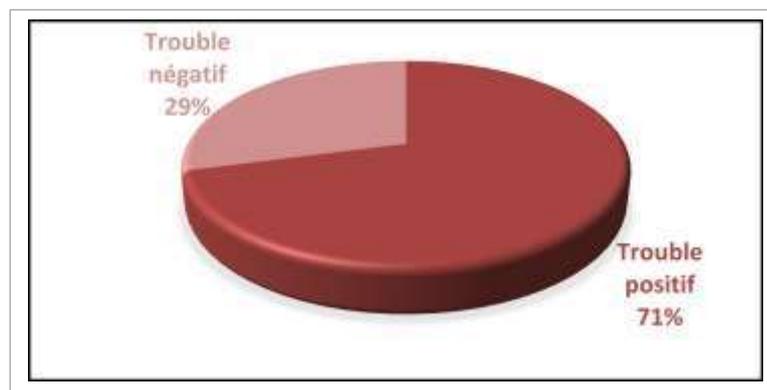


Figure02 : répartition des résultats des prélèvements.

Dans cette étude, nous avons rapporté un taux de 71% de cas positifs. Alors que les travaux de **Méité et al., (2010)**, se rapportant à une étude transversale à visée descriptive a été réalisée dans plusieurs services au niveau de C.H.U de Yopougon à Abidjan, Côte d'Ivoire. Dont les prélèvements ont concernés les surfaces du matériel médical telles que les respirateurs, les couveuses, les surfaces des locaux comme les lavabos et les surfaces fréquemment manipulées par le personnel soignant et les visiteurs comme les poignées de porte, les robinets, et les surfaces d'équipements de l'environnement immédiat des patients telles que les lits et les placards. Le taux de contamination par les microorganismes était relativement faible de l'ordre de 46,7%. Tandis que les travaux de **Meunier et al., (2005)** à Strasbourg, ont rapporté un taux de 87%.de positivité des cultures.

D'après **Meunier et al., (2005)**, cette différence est due à une bonne sensibilité de la méthode d'isolement des colonies bactériennes après l'étape d'enrichissement en bouillon.

II.2 Résultats de l'identification

II.2.1 *Enterobacteriaceae*

Après incubation, les isolats bactériens ont montré divers aspects culturels, en fonction du milieu de culture utilisé, des tests d'orientation et des tests biochimiques par la galerie API 20E et cela en fonction de leur appartenance (Voir Tableaux VIII-XVII et la figure (04) (toutes les photos sont originales).

- **Coloration de Gram**

Les entérobactéries sont des Bacilles à Gram négatif. Figure (03).

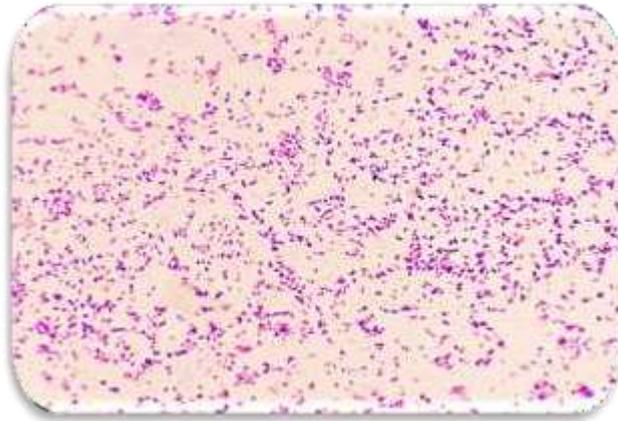


Figure 03 : coloration de Gram des entérobactéries G(X100).

Tableau VIII. Résultats de l'identification d'*Enterobacter cloacea*.

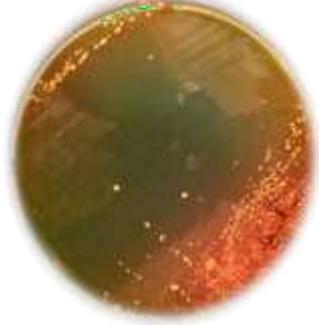
<i>Enterobacter cloacea</i>																			
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>	<p>Gélose Hektoen</p>  <p>Colonies de colonies jaune orangées ressemblent aux autres entérobactéries, dont l'identification se fait par les tests biochimiques.</p>	<p>Gélose Mac Conkey</p>  <p>Colonies rose donc il y a fermentation de lactose.</p>																	
																			
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+

Tableau IX. Résultats de l'identification de *Serratia fecasia*.

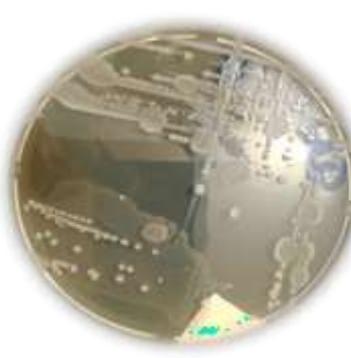
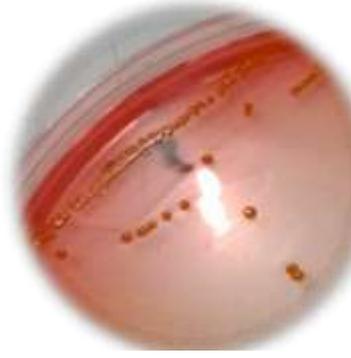
<i>Serratia fecasia</i>																			
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Des colonies qui produisent un pigment non diffusible d'une couleur rose à rouge vif appelé la prodigiosine : c'est un métabolite secondaire alcaloïde.</p>	<p>Gélose Mac Conkey</p>  <p>Colonie rouge/ rose : acidification du milieu par fermentation du lactose.</p>																	
																			
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Tableau X. Résultats de l'identification d'*Ewingella americana*.

<i>Ewingella americana</i>																			
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Colonies orange de taille moyenne dont elles fermentent le lactose.</p>																		
																			
+ ONPG	- ADH	- LDC	- ODC	+ CIT	- H ₂ S	- URE	- TDA	- IND	+ VP	- GEL	+ GLU	+ MAN	- INO	- SOR	- RHA	- SAC	- MEL	- AMY	+ ARA

Tableau XI. Résultats de l'identification de *Cedecea lapagie*.

<i>Cedecea lapagie</i>	
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Colonies verdâtres grande dont elles ne fermentent pas le lactose.</p>
	
ONPG	+
ADH	+
LDC	-
ODC	-
CIT	+
H ₂ S	-
URE	-
TDA	-
IND	-
VP	+
GEL	-
GLU	+
MAN	+
INO	-
SOR	+
RHA	-
SAC	-
MEL	-
AMY	+
ARA	-

Tableau XII. Résultats de l'identification de *Burkholderie cepacia*

<i>Burkholderie cepacia</i>																																									
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Petites colonies verdâtres bombées lisses dont elles ne fermentent pas le lactose.</p>																																								
																																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H₂S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> </tbody> </table>	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																						
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-																						

Tableau XIII. Résultats de l'identification de *Shigella spp.*

<i>Shigella spp</i>	
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Colonies verdâtres dont elles ne fermentent pas le lactose.</p>
	
ONPG	-
ADH	-
LDC	-
ODC	-
CIT	-
H ₂ S	-
URE	-
TDA	-
IND	-
VP	-
GEL	-
GLU	+
MAN	-
INO	-
SOR	-
RHA	-
SAC	-
MEL	-
AMY	-
ARA	-

Tableau XIV. Résultats de l'identification de *Raoutella orithiolytica*.

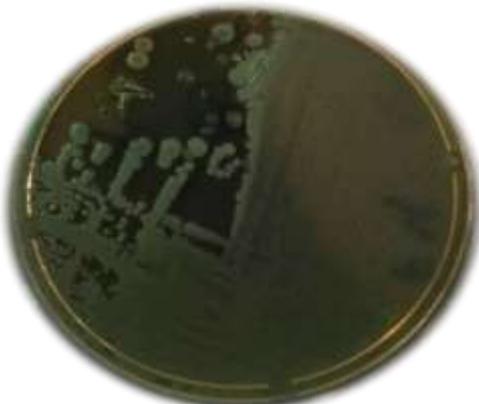
<i>Raoutella orithiolytica</i>	
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Colonies verdâtres lisses et grandes.</p>
	
ONPG	+
ADH	+
LDC	+
ODC	+
CIT	+
H ₂ S	-
URE	-
TDA	-
IND	+
VP	+
GEL	-
GLU	-
MAN	+
INO	+
SOR	+
RHA	+
SAC	+
MEL	+
AMY	+
ARA	+

Tableau XV. Résultats de l'identification de *Pasteurella multocida*.

<i>Pasteurella multocida</i>																																									
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Petite colonies bombées d'une couleur orange dont elles fermentent le lactose.</p>																																								
																																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H₂S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> </tbody> </table>	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																						
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-																						

- *Proteus spp*

Sur la gélose nutritive, les colonies diffusent sur le milieu et donnent un aspect en nappe (Figure 4).

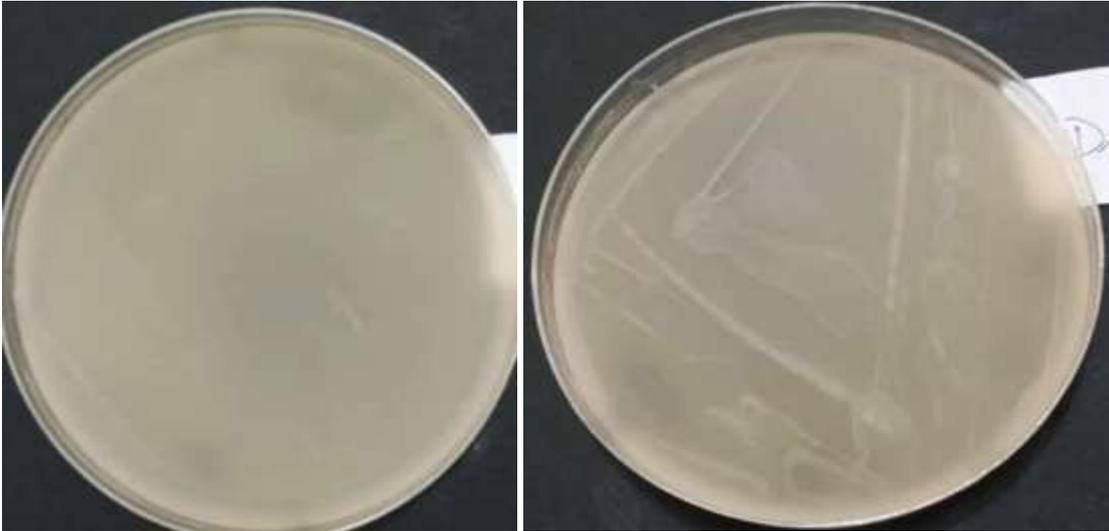
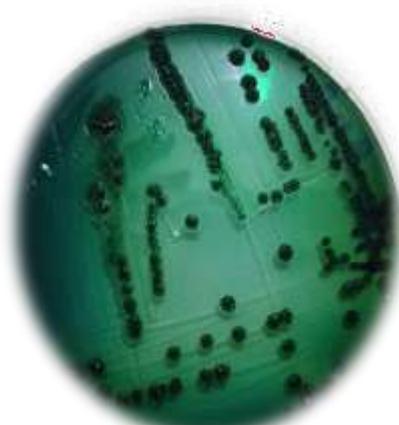
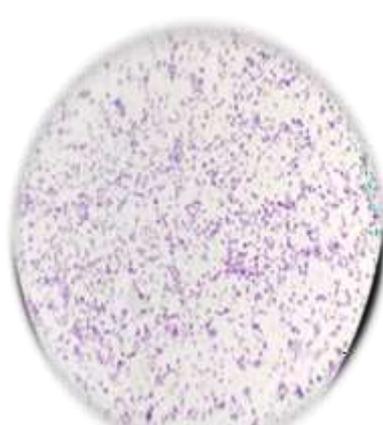


Figure 04 : Nappe de *Proteus* sur milieu gélose nutritive.

II.2.2 Résultats de l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*

Le tableau suivant montre les différents aspects de culture en fonction du milieu et en fonction des tests d'orientation confirmés par les tests biochimiques :

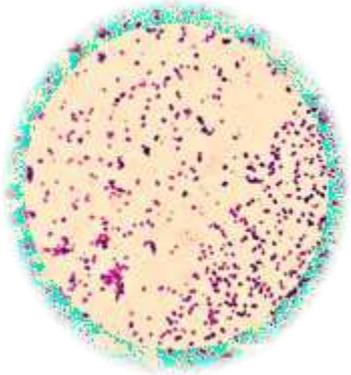
Tableau XVI. Résultats de l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>																				
<p>Gélose nutritive</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>							<p>Gélose hektoen</p>  <p>Colonies vertes à bord irrégulier, rugueuses bombées. Odeur : florale.</p>							<p>Coloration de Gram</p>  <p>Bacille à Gram négatif (GX100).</p>						
<p>Oxydase +</p> 										<p>Catalase +</p> 										
																				
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

II.2.3 Résultats de l'identification d'*Acinetobacter baumannii*

Le tableau suivant montre les différents aspects de culture en fonction du milieu et en fonction des tests d'orientation confirmés par les tests biochimiques :

Tableau XVII. Résultats de l'identification d'*Acinetobacter baumannii*.

<i>Acinetobacter baumannii</i>																			
<p>Gélose nutritif</p>  <p>Colonies blanchâtres bombées muqueuses.</p>	<p>Gélose hektoen</p>  <p>Colonies petites vertes, circulaires, convexes à bord régulier Odeur : poison pourri.</p>	<p>Coloration de Gram :</p>  <p>Cocobacille à Gram négatif. (GX 100).</p>																	
<p>Oxydase -</p> 		<p>Catalase +</p> 																	
																			
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+

II.3 Répartitions des bactéries selon la coloration de Gram

A partir des cultures bactériennes provenant des prélèvements positifs (n=85). Nous avons obtenu un nombre de 32 bactéries à Gram négatif (BGN) avec un pourcentage de 38% et 53 Bactéries à Gram positif avec un pourcentage de 62%.

En général, les BGN sont les sources les plus potentielles d'infections nosocomiales que les Gram positifs (EL bakkali *et al.*, 2015 ; Ghadiri *et al.*, 2012).

Alors que les pathogènes à Gram positifs présentent des taux de transmission beaucoup plus élevés que les Gram négatifs. Cela pourrait s'expliquer par la diminution du temps de survie des Gram-négatifs dans l'environnement sauf pour *Acinetobacter spp* comme l'ont déjà signalés Gastmeier *et al.*, (2006) et Wendt *et al.*, (1997) dans leurs travaux.

II.4 Répartition des résultats selon les unités de prélèvement

Sur les 32 prélèvements positifs pour les BGN, effectués à partir de 5 différentes unités, le taux le plus élevé est retrouvé au niveau de la salle d'accouchement 19/32 (60%) suivi par le post-partum avec 10/32 (31%) puis la salle de circoncision 2/32 (6%) et la salle de soins avec 1/32 (3%). Nous n'avons noté aucun germe au niveau du bloc opératoire (Figure 05).

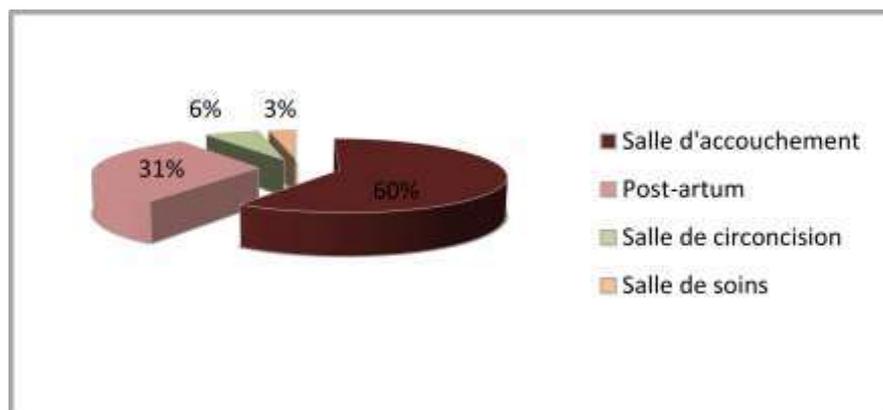


Figure 05: Répartition des souches isolées dans les différents sites.

Une étude similaire a été réalisée par Sserwadda *et al.*, (2018), dans l'hôpital général de Kawolo en Ouganda, où un taux de 44,2 % de positivité a été signalé, et afin d'évaluer l'efficacité des protocoles de décontamination utilisés dans cet hôpital, ils ont consulté l'administration, et ils ont trouvé que le nettoyage se fait seulement par du savon liquide ordinaire et de l'hypochlorite de sodium.

Ces résultats en fait sont comparable à nos résultats, dont une méthode de décontamination semblable a été réalisée au niveau de la salle d'accouchement et la salle de post-partum où on a enregistré le taux le plus élevé de contamination (60% et 31% respectivement).

II.5 Répartition des bactéries Gram négatif

Le tableau ci-dessous représente la fréquence des bactéries. Les bactéries Gram négatif représentent 38% de l'ensemble des bactéries isolées, avec une prédominance d'*Enterobacter cloacae* 16/32 (50%), suivi par *Pseudomonas aeruginosa* 5/32 (15,625%) , *Acinetobacter baumannii* avec un taux de 2/32 (6,25%), *Proteus spp* 2/32 (6,25%), et 1/32 (3,125%) pour chacune de *Serratia ficasia* , *Pasteurela muktocidal* , *Ewingella americana* , *Cedecea lapagie* , *Burkholderia cepacia* , *Shigella spp*, *Raoutella ornithiolytica*.

Tableau XVIII. Fréquence de bactéries isolées.

Souches isolées	Nombre	Taux
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	50%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	15,625%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	6,25%
<i>Proteus spp</i>	2	6.25%
<i>Serratia ficasia</i>	1	3,125%
<i>Pasteurela muktocidal</i>	1	3.125%
<i>Ewingella americana</i>	1	3,125%
<i>Cedecea lapagie</i> ,	1	3,125%
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	3,125%
<i>Shigella spp.</i>	1	3,125%
<i>Raoutella ornithiolytica</i>	1	3,125%
Total	32	100%

Ce tableau montre une prédominance des entérobactéries avec un nombre de 23 bactéries dont la fréquence est mentionnée par un taux de 72%.

Selon **Liassine (2000)**, les microorganismes de l'environnement hospitalier sont extrêmement variés. Les bactéries pathogènes à Gram négatif retrouvées dans cet environnement appartiennent à différents groupes bactériens (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia cepacia*).

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par **Saadi et al., (2021)**, dans un hôpital public algérien, où des groupes bactériens pareil ont été isolés notamment *Shigella*, *Proteus*, *Serratia*, *Acinetobacter* et les *Pseudomonas*.

Ces germes constituent un risque infectieux majeur pour les patients, les visiteurs et le personnel soignant (**Méité et al., 2010**).

Shinde et Mohite (2014), ont identifié que les infirmières sont les personnes les plus fréquemment exposées aux infections nosocomiales.

Toutefois, **Sserwadda et al., (2018)** et **El bakali et al., (2015)** ont trouvé que *Klebsiella pneumonia* est l'espèce d'entérobactéries dominante dans les surfaces hospitalières.

II.6 Répartition des bactéries isolées selon les sites

Le tableau ci-dessous est récapitulatif de la répartition selon les sites.

Dans cette étude, les sites les plus contaminées étaient les lits avec un taux de 11,76% suivi par les poignées de portes avec 9,41% et 8,23% pour les points d'eau. Les résultats sont presque similaires à ceux trouvés par **Méité et al., (2010)**, où ils ont enregistré un taux de 12,8% pour les prélèvements de surfaces de lits, 10,2% pour les poignées de porte et 8,6% pour les points de d'eau.

Nos résultats sont également comparables à ceux de **Saadi et al., (2021)** où la surface la plus contaminée était le lit Cette situation est liée au faite que ces surfaces sont les fréquemment manipulés par le personnel soignant ou les visiteurs (**Méité et al., 2010**). Cette observation est confirmée par l'étude de **Weber et al., (2013)**, que dans n'importe quel hôpital, ces surfaces sont les plus fréquemment en contact avec les mains pendant les soins des patients.

D'ailleurs plusieurs études ont signalé que les mains du personnel médical sont le moyen de transfert le plus probable (**Garcia-Cruz et al. 2012 ; Weber et al. 2010**).

Tableau XIX. Répartition des bactéries isolées à partir des surfaces selon les sites.

	nombre des bactéries isolées	Site de prélèvement	Nombre et % des entérobactéries	Nombre et % de Acinetobacter	Nombre et % de Pseudomonas	Autre bactéries			
Salle d'accouchement	78	Potence	1	0	0	2			
		Source vide et d'oxygène	2	0	0	2			
		Table d'instrument	1	0	0	0			
		Poignet de port	0	0	1	4			
		Lit	0	0	0	3			
		Literie	0	0	0	2			
		Point d'eau	1	0	0	5			
		Chaise	0	0	0	4			
		Séparateur	0	0	0	2			
		Fenêtre	1	0	0	5			
		Bureau et chaise	0	15=14%	0	2=2%	0	5	
		Table te scope	1		0	0	2=2%	3	
		Instrument	1		0	0	0	2	
		Lit mobile	0		2	0	0	1	
		Table chauffante	1		0	0	0	4	
		Balance	1		0	0	0	3	
		Chariot de médicament	1		0	0	0	2	
		Mur	0		0	1	0	2	
		Interrupteur	1		0	0	0	3	
		Rideau	2		0	0	0	3	
Syalitique	1		0	0	0	2			
Post-partum	17	Potence	0	0	1	0			
		Source vide et d'oxygène	1	0	0	0			
		Poignet de port	0	0	1	0			
		Lit	2	0	0	3			
		Literie	1	0	0	0			
		Fenêtre	0	8=7%	0	0=0%	0	2=2%	1
		Lit mobile	1		0	0	0	0	
		Mur	0		0	0	0	1	
		Interrupteur	0		0	0	0	0	
		Rideau	1		0	0	0	0	
		Table de malade	1		0	0	0	2	
		Placard	1		0	0	0	0	
		Salle de soin	2	Brancard	0	0	0	1	
Table d'instrument	0			0	0	0			
Armoire	0			0=0%	0	0=0%	0	1=1%	0
Instrument	0				0	0	0	0	
Bureau et chaise	0				0	1	0	0	

Résultats et discussion

14	Source vide et d'oxygène Poignet de port Lit Literie Point d'eau Séparateur Fenêtre Table te scope Chariot de médicament Mur Interrupteur Rideau	0 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0	2=2%	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0=0%	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0=0%	2 2 1 2 1 1 0 1 1 0 1 0	12 =11%
0	Table opératoire Poignet de porte Chariot de médicament Syalitique Table d'instrument Respirateur Bocal d'aspiration	0 0 0 0 0 0 0	0=0%	0 0 0 0 0 0 0	0=0%	0 0 0 0 0 0 0	0=0%	0 0 0 0 0 0 0	0 =0%
111		25		2		5		79	
%	100%		23%		2%		5%		71%

II.7 Réparation des bactéries avant et après la désinfection

Les mesures de prévention comme la désinfection des surfaces et une bonne hygiène des mains peuvent jouer un grand rôle dans l'interruption de la transmission des pathogènes associés aux soins de santé (**Weber et al. 2010**) (**Garcia-Cruz et al. 2012**).

D'après la figure (06), on note la disparition de toutes les souches d'*Acinetobacter*, de *Pseudomonas* et des entérobactéries à l'exception de la persistance du genre *Proteus* qui a été notée.

Cette persistance a été accompagnée par une augmentation de la résistance vis-à-vis certains antibiotiques.

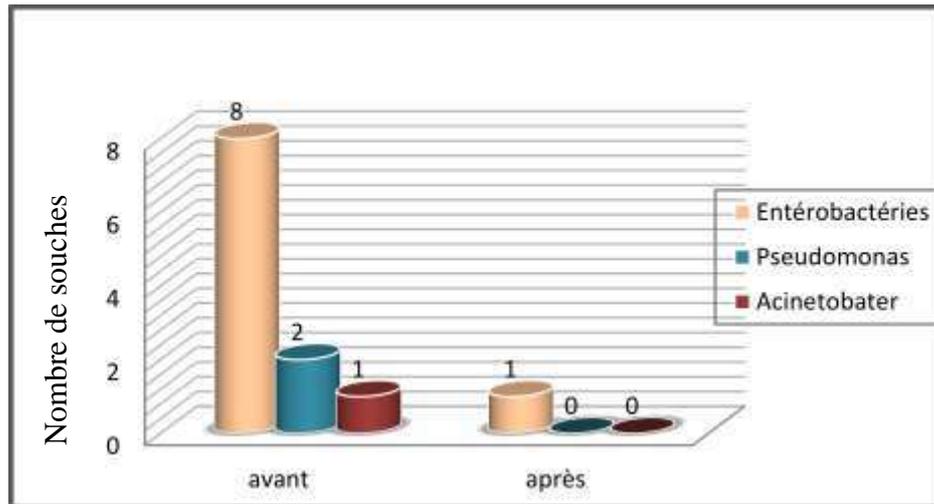


Figure 06 : Réparation des bactéries avant et après la désinfection.

L'étude De **Abreu *et al.*, (2014)** ont suggéré qu'il existait une relation clonale entre des souches de surfaces et cliniques et que ces germes isolés à partir de l'environnement liée à un manque d'hygiène à l'hôpital et surtout à une insuffisance dans la désinfection étaient une source probable de survenus d'infections nosocomiales.

Selon une étude menée par **Saadi *et al.*, (2016)** où des échantillons ont été prélevés, après le nettoyage de routine, sur 192 sites d'échantillonnage dans différentes unités de soins de santé a révélé une grande diversité microbienne dont les bactéries à Gram négatif étaient le groupe le plus dominant (62,03 %) principalement représenté par les entérobactéries (42,59 %). Ce qui n'est pas le cas de cette étude.

Cette différence serait probablement due à la méthode de désinfection utilisée. D'après **Sserwadda *et al.*, (2018)**, la persistance des bactéries en milieu hospitalier pourrait être attribuée à la force inefficace des agents désinfectants et à la fréquence limitée de décontamination.

II.8 Résultats de l'Antibiorésistance

II.8.1 Antibiorésistance chez les entérobactéries

Selon les résultats de l'antibiogramme illustrée par la figure (07), 23/25 soit 92% des souches d'entérobactéries étaient résistantes vis-à-vis des antibiotiques.

23 souches sont résistantes à l'Amoxicilline (AMX), 16 souches vis-à-vis de l'Aztreonam (AZT), 15 sont résistantes à la Céfotaxime (CTX), 12 sont résistantes aux Céfazolines(CZ). Une seule souche est résistante à l'Acide nalidixique(NA), au Chloramphénicol (C), à la Ciprofloxacine(CIP) et à la Gentamicine (GEN).

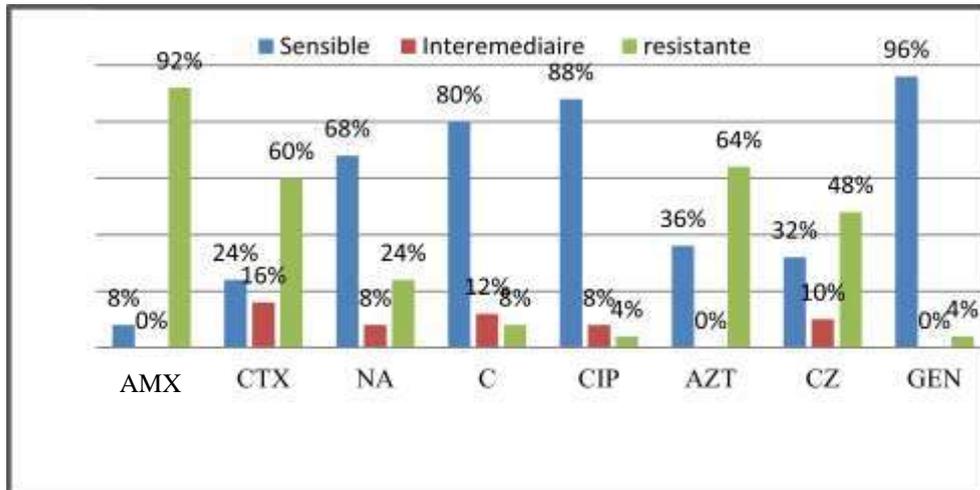


Figure 07 : Taux de résistance des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques testés.



Figure 08 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Raoutella ornithiolytica*. (Photo originale).

comparant nos résultats avec une étude prospective réalisée sur une période de 4 mois (**Janvier à Avril 2018**), au service de Réanimation du CHU de Treichville par **Ango et al., (2020)** dont plusieurs souches d'entérobactéries ont été isolées à partir des prélèvements de surface. Le profil de résistance de ces dernières était répartis comme suit : AMP :93,54%, AMC :77,41%, CTX :29%, CIP :58,06% ,AZT :38,07%,GEN :61,29%.

Les résultats ont démontré une concordance pour la résistance aux aminopénicillines uniquement d'où on observe une résistance très élevée. Ainsi, une résistance importante a été mentionnée pour les souches qui expriment un phénotype de résistance aux céphalosporines et aux monobactames pour les souches isolées dans cette étude.

Actuellement, la résistance bactérienne dans notre étude est expliquée par la sécrétion des BLSE qui représentent le mécanisme le plus connue et qui confèrent une résistance aux

pénicillines, aux céphalosporines à large spectre (céfotaxime,, ceftazidime) et aux monobactames (aztréonam) suite à des mutations ou un transfert génétique horizontal (Mhaya,2019).

II.8.2 Antibiorésistance chez les *Pseudomonas*

D’après le résultat illustré par la figure (09) les souches de *Pseudomonas* sont très sensibles à la GEN, la CIP avec un taux de 100% (n=5), une sensibilité à la CAZ avec un taux de 80% (n=4) et la TOB avec un taux de 40%(n=2).

Une résistance importante était observée vis-à-vis de la TI avec un taux de 100% (n=5), une résistance de 60% (n=3) vis à vis de la TCC et une résistance de 20% (n=1) vis-à-vis de la CAZ.

Concernant les souches à sensibilité intermédiaire lié à la PRL un taux de 100% (n=5) a été noté, 60%(n=3) pour la TOB, et 40% (n=2) pour la TCC.

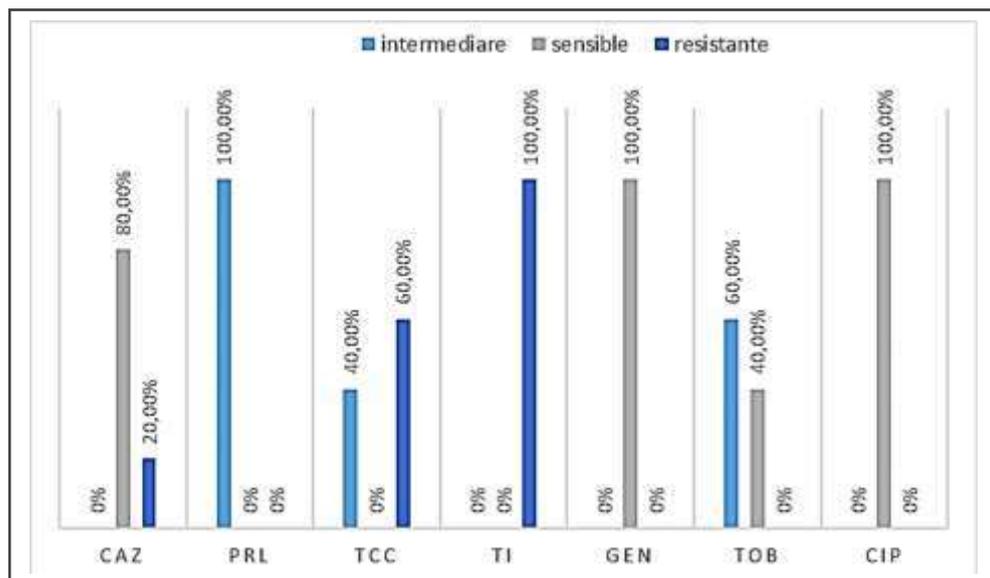


Figure 09 : Taux de résistance des *Pseudomonas* vis-à-vis des ATB testés.



Figure 10 : Zone d’inhibition des antibiotiques testés chez *Pseudomonas*.
(Photo originale).

Les résultats présentés dans cette étude sont similaires à une étude rétrospective en Maroc qui s’étalant sur trois ans (Avril 2012 à Mars 2015) réalisée par **Frikh et al ., (2017)** dans un centre hospitalier relevant du service de santé des Forces Armées Royales, montre la présence des *Pseudomonas* dans les échantillon de surface dont les taux de résistances étaient représentés comme suit :la TCC (51,5%), PRL(37,7%), TI (32,6%), CAZ (17,4%), GEN (29,5%) ,TOB (21,1%) et CIP (21,1%).

La résistance à la céphalosporine peut être expliquée par la capacité des *Pseudomonas* de sécréter des céphalosporinases AmpC suite à un mutation du gène régulateur. La résistance aux carboxypénicilline se fait généralement par des pénicillinases suite à un transfert horizontal de matériel génétique, qui sont de types la carbapénicillinase PSE-1. Les enzymes de types OXA à spectre restreint ou de type TEM (TEM-2, TEM-1) (**Frikh et al .,2017**).

II.8.3 Antibiorésistance chez *Acinetobacter*

D’après l’histogramme représenté par la figure ci-dessus, et pour les deux souches d’*Acinetobacter*, une résistance avec un taux de 100% a été observée vis-à-vis de la CAZ et de la TCC.

Une sensibilité de 100% vis-à-vis de la GEN et de la CIP a été notée. Nous signalons l’absence de la catégorie clinique intermédiaire.

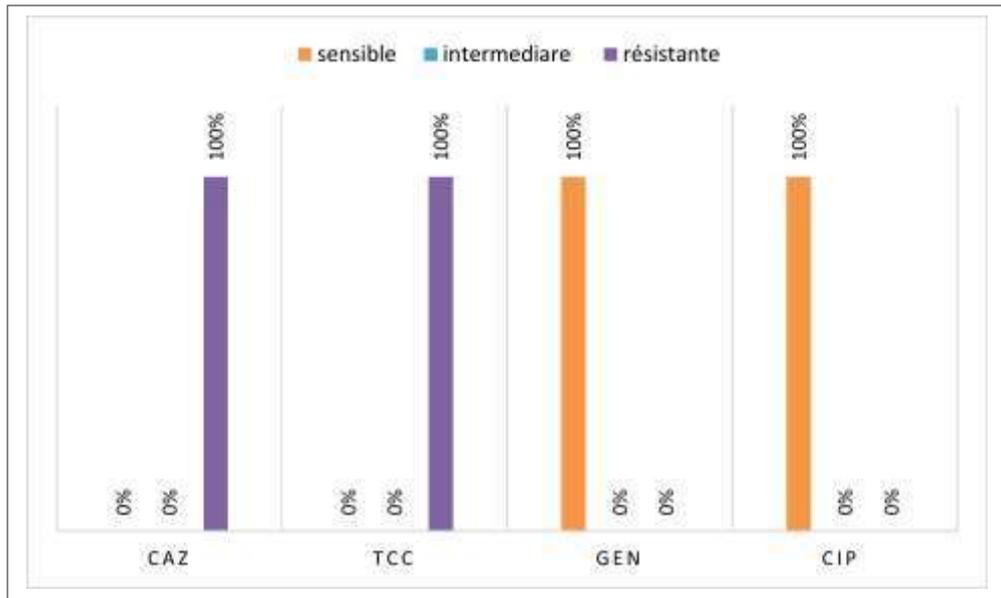


Figure 11 : Taux de résistance des *Acinetobacter* vis-à-vis aux antibiotiques testés.

Une étude rétrospective similaire a été faite en Tunisie de juin 2012 à septembre 2020 et a révélé une résistance de 98,1% à la CAZ et 96,4% à la TCC, une résistance plus importante vis-à-vis de la GEN (88,2%) et de la CIP (93,5%) (Mellouli, *et al.*,2021). Ces résultats ne corroborent pas avec les résultats obtenus.

Les germes isolés résistent naturellement aux céphalosporines de 3ème génération et de la 2ème génération mais la capacité de résistance vis-à-vis des autres molécules peut être expliqué soit par la capacité d’intégrer du matériel génétique issu d’espèces génétiquement proches dans l’environnement hospitalier soit par la prescription des antibiotiques favorisant encore la sélection de souches résistantes.

II.9 Répartition de la résistance selon les unités de prélèvements

II.9.1 Répartition de la résistance des *Enterbacteriaceae* selon les unités de prélèvements

D’après la figure (12) nous n’avons pas détecté de bactéries résistantes aux antibiotiques ni dans le bloc opératoire ni dans la salle de soin.

La résistance des bactéries à l’AMX était de 56% dans la salle d’accouchement, 35% dans la salle post partum et 9% dans la salle de circoncision.

Les bactéries résistantes à la CTX sont signalées avec un taux de 73% dans la salle d’accouchement, 20 % dans la salle post partum et 7% dans la salle de circoncision.

Les bactéries étaient résistantes à NA avec un taux de 67% dans la salle d'accouchement et 33% dans la salle post partum.

Vis-à-vis de la C, la CIP et la GEN, nous avons noté un taux de 100% dans la salle d'accouchement et un taux de 0% dans les autres sites. 69 % des souches sont résistantes vis-à-vis de l'AZT dans la salle d'accouchement ,19% dans la salle post partum et 12% dans la salle de circoncision.

Un taux de 50% à la CZ est observé dans la salle d'accouchement et 42% dans la salle post partum et 8% dans la salle de circoncision.

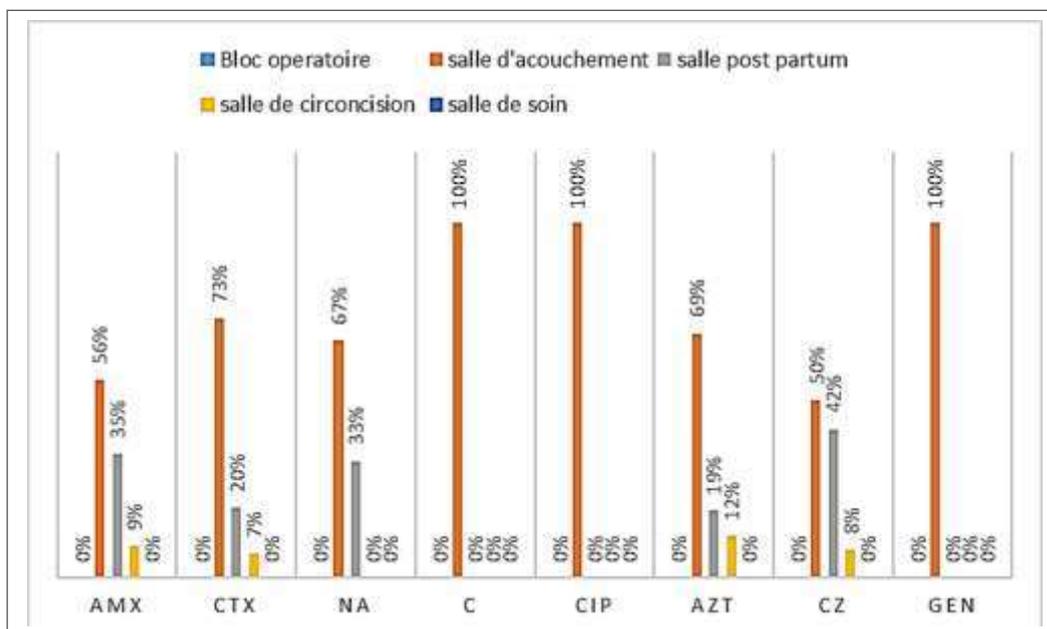


Figure 12 : Répartition de la résistance des entérobactéries selon les unités.

II.9.2 Répartition de la résistance des *Pseudomonas* selon les unités de prélèvements

D'après la figure (13), nous avons noté l'absence de souches résistantes dans le bloc opératoire et la salle de circoncision. Tandis qu'une souche est résistante aux CAZ dans la salle post partum.

Deux souches (n=2) et une seule sont résistantes aux TCC au niveau de la salle post partum et dans la salle d'accouchement respectivement. La totalité des souches de *Pseudomonas* isolées (n=5) sont résistantes aux TI, dont (n=2) au niveau de la salle d'accouchement et (n=2) dans la salle post partum, et une seule au niveau de la salle de soin.

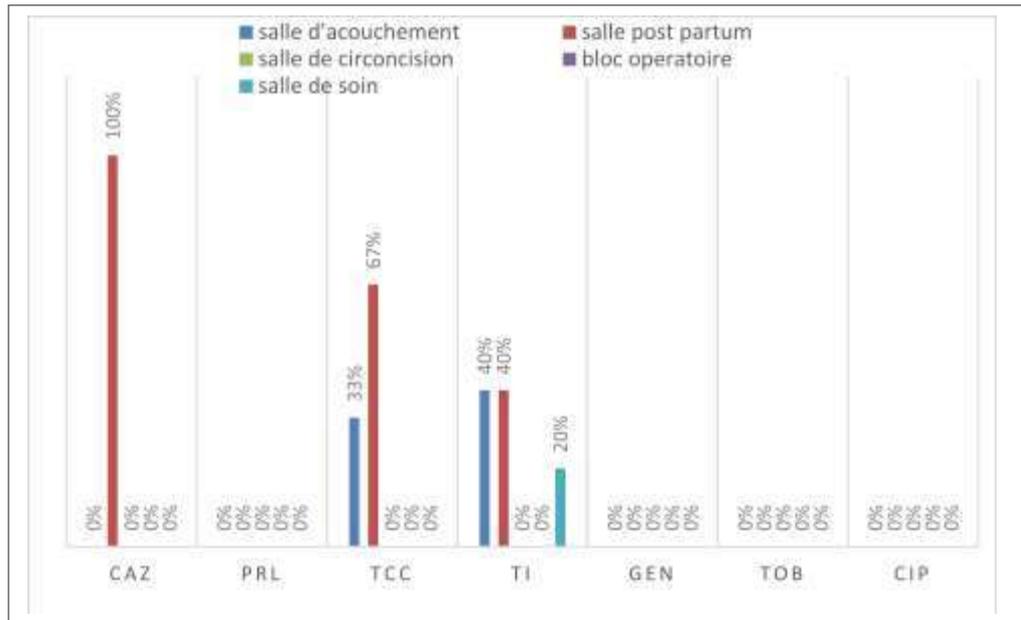


Figure 13 : Répartition de la résistance des *Pseudomonas* selon les unités.

Le pourcentage élevé des souches bactériennes est en rapport avec un déficit d’hygiène hospitalière. Nos résultats sont en concordance avec une étude similaire rétrospective réalisée au Maroc durant un an sur les prélèvements d’environnement au niveau des sites à risque sévère, qui montre la dominance des entérobactéries avec un taux de 29,48% par rapport aux *Pseudomonas* représenté par un taux de 23,12% (Ango *et al.* ,2020).

Cette dominance est expliquée par la capacité des entérobactéries à survivre dans les surfaces sèches (Noskin *et al.*,1995). Tandis que les *Pseudomonas* survivent dans les surfaces humides (Bertrand *et al.* ,2011).

Nos résultats ont clairement démontré que le taux d’entérobactéries résistantes étaient beaucoup plus élevées que les *Pseudomonas* dans la salle d’accouchement, alors que les *Pseudomonas* résistantes étaient plus élevés dans la salle post partum et la salle de soin.

Cette étude est témoin qu’un manque d’hygiène dans l’environnement hospitalier peut conduire à des épidémies ou à des infection nosocomiales, suite à la colonisation importante de différents matériels et surfaces par ces germes résistants comme l’ont déjà soulignés dans leurs travaux Oie *et al.*, (2002).

II.9.3 Répartition de la résistance des *Acinetobacter* selon les unités

La figure (14) montre que les souches testées (n=2) sont résistantes à la CAZ et à la TCC avec un taux de 100% au niveau de la salle d’accouchement. Nous avons noté leur absence dans les autres unités.

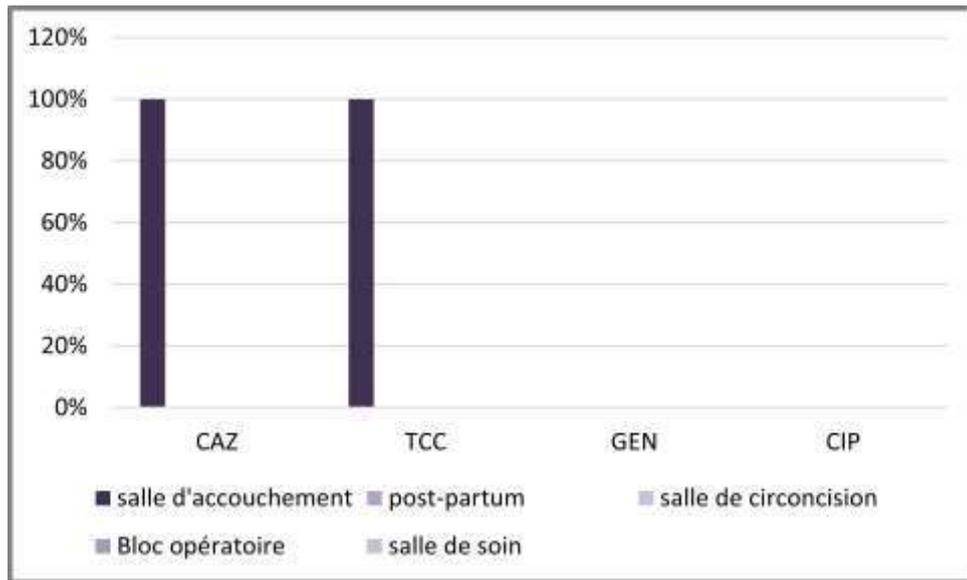


Figure 14 : Répartition de la résistance des *Acinetobacter* selon les unités.

L'environnement hospitalier contaminé par les *Acinetobacter baumannii* apparaît comme l'un des plus problème au sein des établissements de soins, dans notre, nous avons trouvé un nombre très restreint de cette bactérie au niveau de la salle d'accouchement classée comme une zone à risque sévère.

Dans notre étude, seulement 2 souches ont été isolées au niveau des lits mobiles. Ces résultats sont similaires à une études rétrospective de janvier 2012 au 30 septembre 2020 au niveau de service de réanimation en Tunisie, où un taux de 12, 2% a été signalé et a dominé l'écologie bactérienne de ce service (**Mellouli et al.,2021**).

Une autre étude similaire réalisée en Iran a montré la présence de ce germe dans les lits des patients avec un taux de 36%(n=8) au niveau de l'unité de soin intensif à partir de 28 prélèvement de surface réalisés de juin 2015 à avril 2016 (**Eftekhar et Esmaeeli Torkanpoory,2018**).

L'apparition des infection nosocomiale se fait par une transmission croisée entre les patients et leur environnement hospitalier, dont la persistance de ce germe dans ce milieu est expliquée par sa capacité extraordinaire d'adaptation aux différentes conditions comme la tolérance à la dessiccation par les LPS et la capsule polysaccharidique (**Singh et al.,2019**) et la multirésistance aux antibiotiques(**Roy et al ,2022**) .

L'humidité élevée favorise la survie d'*A.baumannii*. Cette information a été prouvée par une étude en Chine dans l'unité des soins intensifs qui a montré l'existence d'*A.baumannii*

dans l'aérateur du robinet. Une autre étude a retrouvé 10 isolats de cette bactérie dans les eaux usées des hôpitaux au niveau de l'hôpital universitaire de Split (*Kovacic et al .,2017*).

Dans plusieurs études, il existe une différence par rapport à la fréquence de contamination du milieu hospitalier due probablement à la technique d'échantillonnage engendrant ainsi soit une difficulté dans la comparaison des résultats, soit à la difficulté de la désinfection et à la facilité de contamination par les patients (*Otter et al., 2011*).

II.10 Répartition des bactéries résistantes et multi résistantes

Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsque la résistance est acquise à plus de 3 familles d'antibiotiques.

Sur un total de 32 bactéries, 2 bactéries sont totalement sensibles aux antibiotiques testés. Le reste des bactéries (n : 30) varie entre résistantes (63%) et multi résistantes (37%) comme l'indique la figure (15).

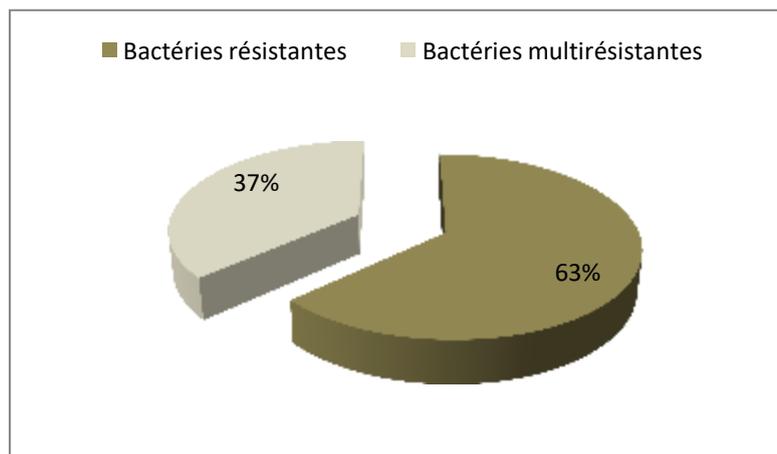


Figure 15 : Répartition des bactéries résistantes et multirésistantes.

L'environnement hospitalier constitue une niche écologique importantes en microorganismes multirésistants pouvant être un réservoir à partir duquel différentes infections peuvent se développer (*Zenati et al., 2016*).

Les résultats de notre étude sur les organismes multirésistantes sont très proches avec ceux de *Sserwadda et al.,(2018)*, où ils ont trouvé un taux de 27% des bactéries multirésistantes. D'autre part un taux inférieur (11%) a été signalé au sein du l'hôpital de Guelma (Algérie) (*Bouguenoun et al.,2016*) .

L'émergence de ces bactéries multirésistantes (BMR) au sein d'un établissement dépend de plusieurs facteurs notamment l'absence des protocoles visant à maîtriser la

transmission croisée, l'absence d'une politique rationnelle de prescription des anti-infectieux etc.... (**Zenati ,2010**).

II.11 Tests complémentaires

II.11.1 Répartition des bactéries productrice de BLSE selon la technique de double disque

Comme le montre les figures 16 et 17, 47,82 % des entérobactéries sont des producteurs des BLSE (Classe A) et 52,17% sont non producteurs, Alors que pour les *Pseudomonas* 80% sont des producteurs des BLSE, tandis que toutes les souches d'*Acinetobacter* sont productrices de BLSE.

Nos résultats sont différents de ceux décrits par **Méité et al., (2010)**. En effet, dans leurs travaux, le taux des Entérobactéries productrices de BLSE était seulement de 23,5%, 60%, pour *Pseudomonas* et 11,8% pour *Acinetobacter*.

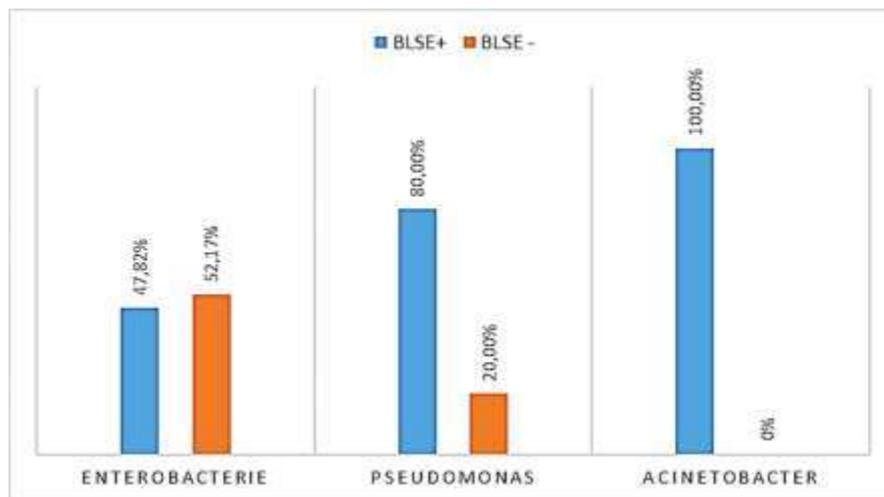


Figure 16 : Répartition des bactéries productrices selon le test de double disque.

Ces BGN secrètent les BLSE dans le but d'inactiver les béta lactamines, chez les entérobactéries, le type le plus connue est les β -lactamases de type TEM, dues à une mutation provoquant une résistance aux C3G ou une résistance à l'acide clavulanique à la fois (**Grigorenko et al.,2018**).

Pour les *Pseudomonas*, les BLSE de classes A sont les enzymes PER ,VEB, GES HV2a, BEL , dont le spectre inclut les C3G et les C4G qui ont la particularité d'être inhibés par l'acide clavulanique (**Mérens et al .,2012**).

Ces mêmes enzymes ont été décrites chez *A. baumannii* aussi (**Castanheira et al., 2021**).

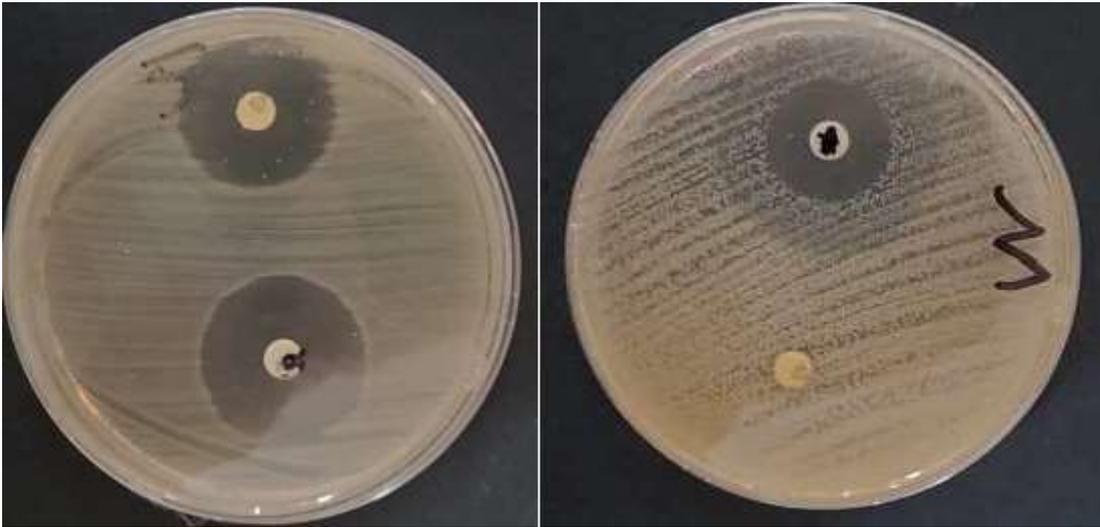


Figure 17: Résultats de test double disque.
(Photo originale).

II.11.2 Répartition des bactéries selon la production des carbapénémases

✚ Test de Hodge

D'après les résultats, on a constaté une absence de production des carbapénémases par les bactéries testées suite à l'inhibition de la croissance bactérienne le long du trait d'ensemencement.

✚ Test de l'EDTA

D'après la photo ci-dessus, nous avons noté une absence de production des carbapénémases de classe B. Des zones de même diamètre ont été observées avec la présence ou l'absence d'EDTA sur le disque d'IMP pour toutes les souches testées.

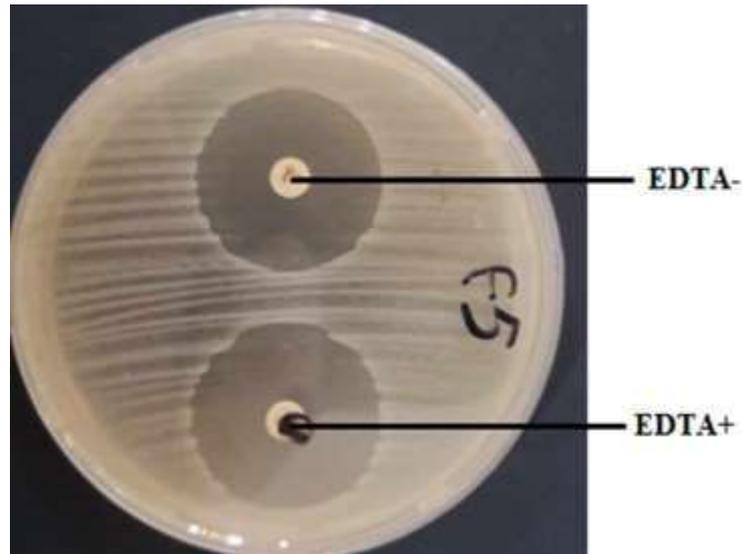


Figure 18 : Résultat de test de l'EDTA. (Photo originale).

Nos résultats montrent une absence totale de carbapénémases, contrairement aux résultats obtenus chez **Mesli et al., (2013)** et **Zenati et al., (2015)** et **Bouguenoun et al., (2016)**, qui ont identifié la présence de carbapénémases (OXA-23 et NDM-1) chez *A. baumannii* isolé à partir des surfaces environnementales dans des hôpitaux à Tlemcen, à Sétif et à Béjaïa. Et pour la première fois en Algérie chez *Enterobacter cloacae*, signalé en 2016 dans un hôpital à Guelma.

Dans le monde entier, l'émergence et la propagation mondiale des BGN productrices de carbapénémases préoccupent grandement les services de santé (**Djahmi et al., 2014**), notamment les souches productrices d'OXA-48 (carbapénémases de class D) qui ont été largement signalées comme sources d'épidémies nosocomiales dans de nombreuses régions du monde, notamment dans les pays méditerranéens (**Benouda et al., 2010 ; Carrër et al., 2008**).

En Algérie, plusieurs études ont montré la propagation des carbapénémases chez les BGN dans les hôpitaux surtout au niveau des souches cliniques. Cependant il existe actuellement peu d'informations sur la diffusion de ces carbapénémases dans l'environnement hospitalier en Algérie (**Bouguenoun et al., 2016**).

II.11.3 Répartition des bactéries selon la formation de biofilm

D'après la figure ci-dessous, la répartition des 32 souches bactérienne selon la capacité de formation des biofilms, montre une prédominance de sa formation avant la désinfection avec un taux de 59,37% (n=19) , alors que seulement 3% (n=1) de formation de biofilm était observée après la désinfection.

Une absence de formation de biofilm avant la désinfection est notée avec un taux de 40,62% (n=13) et un taux de 0% était mentionné après la désinfection.

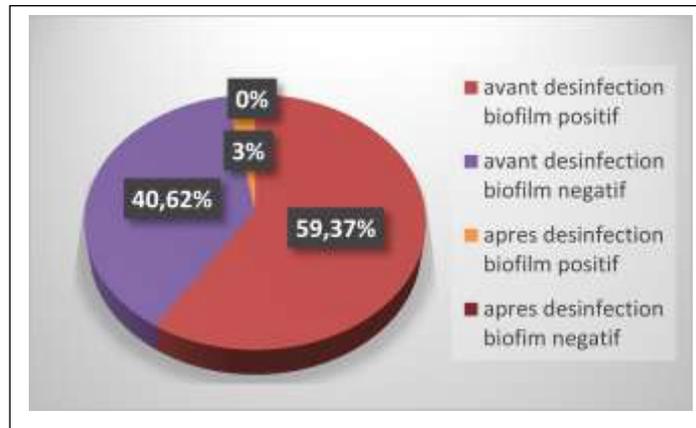


Figure 19 : Formation de biofilm avant et après la désinfection.

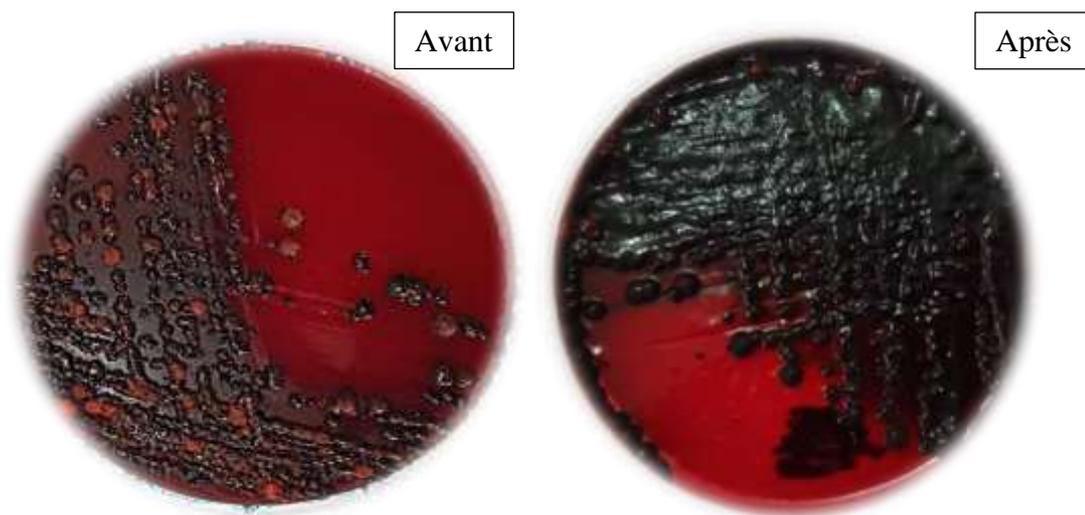


Figure 20 : Formation de biofilm chez *Proteus spp* avant et après la désinfection (Photo originale)

Les biofilms sont considérés comme un réservoir de diversité génétique qui favorise l'adaptation, l'évolution et la survie des bactéries dans l'environnement hostile, D'après les résultats, nous nous intéressons uniquement aux bactéries formatrices de biofilm qui représentent une cause d'apparition des infections bactériennes récalcitrantes aux traitements antibiotiques et aux défenses immunitaires (Hathroubi *et al.*, 2017).

Ce biofilm limite la diffusion d'antibiotique entre les cellules bactériennes par la matrice d'exopolysaccharides (EPS) qui représente une robuste barrière (**Flemming et al.,2007**) Les polymères d' EPS chargés peuvent également inactiver l'action d'antibiotique (**Høiby et al.,2010**).

Un seul cas a été observé chez *Pseudomonas* suite aux alginates qui ont désactivé les aminosides par la neutralisation de la charge (**Alipour et al.,2009**).

Plusieurs études ont révélé une interconnexion entre la formation de biofilms et la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les *Acinetobacter* , les *Pseudomonas* et les entérobactéries (**Sanchez et al.,2013**).

Ce biofilm favorise la multirésistance bactérienne par la transformation naturelle et par le transfert génétique horizontal des plasmides grâce à la matrice hautement hydratée (EPS) (**Harrison et Brockhurst,2012**).

Les BGN résistent par cette agrégation aux désinfections dans l'environnement hospitalier. Une étude expérimentale a été menée en Iran durant l'année 2017 et a montré une résistance différente des bactéries vis-à-vis de 3 types de désinfectants dans les mêmes conditions et les mêmes concentrations du désinfectant, il ont constaté qu'avant de choisir et d'appliquer une désinfection dans les hôpitaux, il est absolument nécessaire de mesurer les valeurs de CMI et CMB des désinfectants utilisés quotidiennement contre les agents bactériens ,car l'utilisation de doses non létales de désinfectants n'arrête pas la croissance de ces agents pathogènes et au contraire augmenterait leur niveau de résistance (**Tapouk et al ., 2020**).

Conclusion

CONCLUSION

Les infections nosocomiales représentent des indicateurs de qualité des services dans des établissements de santé, elles sont à l'origine d'une augmentation de morbidité et de mortalité surtout celles qui sont causées par des bactéries multirésistantes qui mènent à des impasses thérapeutiques.

Notre étude nous a permis de déterminer la prévalence des bactéries Gram négatifs les plus retrouvés dans le milieu hospitalier : *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ainsi que leur profil de résistance. Ces bactéries ont été isolées des différentes surfaces les plus proches au patients, Les résultats montrent que la fréquence d'isolement est importante pour les entérobactéries (n= 25) par rapport aux *Pseudomonas* (n=5) et aux *Acinetobacter* (n=2).

Les sites les plus contaminés sont ceux qui se retrouvent en contact avec les patients, représentés essentiellement par les lits avec un taux de 11,76% suivi par les poignées de portes avec 9,41% et 8,23% pour les points d'eau.

Selon les résultats de l'antibiogramme des souches isolées ,64% des entérobactéries sont résistantes à l'AZT, 60% résistent à la CTX. Un taux de résistance de 24% pour l' NA ,23% pour l'AMX, 8% vis-à-vis la C et une résistance de 4% vis-à-vis de la CIP et de la GEN ont été signalés. Pour les *Pseudomonas*, 100% des souches résistent à la TI ,60% résistent à la TCC et un taux de 20% pour la CAZ. Les *Acinetobacter* présentent une résistance à la CAZ et à la TCC avec un taux de 100% .

Concernant les tests complémentaires, 100% des *Acinetobacter* isolés sont des producteurs des BLSE de classe A, le même cas est observé pour les *Pseudomonas* avec un taux de 80% et un taux de 47.82% pour les entérobactéries. Aucune souche testée n'a été productrice de carbapénémases de classe B.

Pour le test de formation de biofilm, 58% des souches étudiées sont des formatrices de biofilm avant la désinfection des sites. Ce taux régresse jusqu'à atteindre 3% après le nettoyage.

L'augmentation de la résistance bactérienne vis à vis de plusieurs antibiotiques doit être surveillée surtout dans l'environnement hospitalier. Il est important de faire des recherches autour de ces infections pour mieux comprendre les mécanismes de défense développés par les bactéries afin de mettre au point des nouveaux antibiotiques.

En perspective, nous nous proposons :

- Des études génotypiques sur les mécanismes de résistance bactérienne pour les souches isolées.
- Optimiser les méthodes et les milieux des prélèvements pour améliorer les résultats.
- Tester les souches formatrices de biofilm avec les différents désinfectants afin de déterminer leurs résistances et leur impact dans l'environnement hospitalier.

Les BGN évoluent et développent des mécanismes de défense qui leur permettent d'échapper aux antibiotiques. Pour faire face à ce problème, il est important que l'usage de ces antibiotiques soit guidé par les données de l'antibiogramme afin de limiter l'émergence de souches résistantes compliquant plus la prise en charge de pathologie, et de faire un programme de surveillance de l'écologie dans les hôpitaux et l'application des bonnes pratiques d'hygiène par la réalisation des formations de personnel soignant ,suite à la collaboration entre microbiologiste et clinicien.

***Références
bibliographiques***

(A)

- Acobs AC, Blanchard CE, Catherman SC, Dunman PM, Murata Y, 2014, An ribonuclease T2 family protein modulates *Acinetobacter baumannii* abiotic surface colonization. PLoS ONE. PLoS One,9(1):e85729. doi: 10.1371/journal.pone.0085729.
- Ajao, A. O., Johnson, J. K., Harris, A. D., Zhan, M., McGregor, J. C., Thom, K. A., & Furuno, J. P. (2013). Risk of acquiring extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* from prior room occupants in the intensive care unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 34(5), 453-458.
- Akbari, M., Bakhshi, B., & Najar Peerayeh, S. (2016). Particular Distribution of *Enterobacter cloacae* Strains Isolated from Urinary Tract Infection within Clonal Complexes. *Iranian Biomedical Journal*, 20, 49 - 55.
- Al Atrouni A , Joly-Guillou M , Hamze M , Kempf M, 2016, Reservoirs of Non-*baumannii* *Acinetobacter* Species. *Front Microbiol* 2016 Feb 1;7:49.
- Alcock, B. P., Raphenya, A. R., Lau, T. T., Tsang, K. K., Bouchard, M., Edalatmand, A., ... & McArthur, A. G. (2020). CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic acids research*, 48(D1), D517-D525.
- Alipour, M., Suntres, Z. E., & Omri, A. (2009). Importance of DNase and alginate lyase for enhancing free and liposome encapsulated aminoglycoside activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(2), 317-325.
- Allocati N, Masulli M, Alexeyev M, Di Ilio M, 2013, *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health*, 10(12):6235-54.
- Allocati N, Masulli M, Alexeyev M.F, Di Ilio C, 2013, *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health* ,10(12):6235-54.
- Ango, P. D., Konan, K. D., Kouamé, K. A., Sai, S. S., Tchimou, A. Y., Adingra, S. C., ... & Boua, N. (2020). Écologie Microbienne des Surfaces et Dispositifs Médicaux au Service de Réanimation du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Treichville. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 21(1).

- Arafa N., smatif., scheftel gn, meunier O (2009) caractérisation phénotypique et génotypiques de souche de Klebsiella pneumoniae sub p pneumoniae isolée a l'hôpital universitaire de Constantine, Algérie ; science et technologie C-N°30 decembre (2009) , p.44-45-46
- Askarian, M., Mahmoudi, H., & Assadian, O. (2013). Incidence of nosocomial infections in a big university affiliated hospital in Shiraz, Iran: A six-month experience. *International journal of preventive medicine*, 4(3), 366.
- Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F., & Monteil, H. (2000). *Bactériologie clinique*. Ellipses Edition Marketing SA.

(B)

- Babic, M., Hujer, A. M., & Bonomo, R. A. (2006). What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug resistance updates*, 9(3), 142-156.
- BanerjeeA,BatabylK , Singh AD, Joardar SN, Dey S, Isore DP, Sar TK, Dutta TK, Bandyopadhyay S, Samanta I, 2020, Multi-drug resistant, biofilm-producing high-risk clonal lineage of Klebsiella in companion and household animals. *Lett Appl Microbiol*, 71(6):580-587.doi: 10.1111/lam.13381.
- Bengoechea J.A et Pessoa J , 2019, Klebsiella pneumoniae infection biology: living to counteract host defences. *FEMS Microbiol Rev*, 43(2): 123–144.
- Benouda A, Touzani O, Khairallah M-T, Araj GF, Matar GM,2010, First detection of oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in Klebsiella pneumoniae from Morocco. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*,104(4):327–330.
- Bergogne-Bérézin E, Towner KJ, 1996, Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, 9(2):148-65. doi: 10.1128/CMR.9.2.148.
- Berrazeg, M, Diene S.M, Drissi M, Kempf M, Richet H, Landraud L, and Rolain J.L, 2013, Biotyping of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolates from France and Algeria using MALDI-TOF MS. *PLoS.One*. 8 :e61428.

- Bertrand, X., Slekovec, C., Cholley, P., & Talon, D. (2011). Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Francophone des laboratoires*, 2011(435), 35-40.
- Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Fiandaca, M. J., Pedersen, J., Hansen, C. R., Andersen, C. B., ... & Høiby, N. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatric pulmonology*, 44(6), 547-558.
- Bouguenoun W, Bakour S, Bentorki A, Al Bayssari C, Merad T, Rolain J.M, 2016, Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.011>.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*. Doi : 10.1007/s10298-017-1118-z.
- Bush K, Jacoby GA, 2010, Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 54(3):969-76, doi: 10.1128/AAC.01009-09.

(C)

- Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important!. *Pharmactuel*, 42.
- Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P, 2008, Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(8):2950–2954.
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(3), dlab092.

- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(3), dlab092.
- CCLIN Sud-Ouest, 2005, Entretien des locaux des établissements de soins. 49 pages. NosoBase n°15567.
- Centers for Disease Control and Prevention . Antibiotic resistant threats in the United States 2019. (2019). Available online at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf> .
- Centre européen de prévention et de contrôle des maladies. Résistance aux antimicrobiens (EARS-Net). ECDC. Rapport épidémiologique annuel pour 2014 . Stockholm : ECDC ; 2018.
- Chavda, K. D., Chen, L., Fouts, D. E., Sutton, G., Brinkac, L., Jenkins, S. G., ... & Kreiswirth, B. N. (2016). Comprehensive genome analysis of carbapenemase-producing *Enterobacter* spp.: new insights into phylogeny, population structure, and resistance mechanisms. *MBio*, 7(6), e02093-16.
- Cheng, L., Nelson, B. C., Mehta, M., Seval, N., Park, S., Giddins, M. J., ... & Uhlemann, A. C. (2017). Piperacillin-tazobactam versus other antibacterial agents for treatment of bloodstream infections due to AmpC β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(6), e00276-17.
- Chong, Y., Shimoda, S., & Shimono, N. (2018). Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infection, Genetics and Evolution*, 61, 185-188.
- Cramton, S. E., Gerke, C., Schnell, N. F., Nichols, W. W., & Götz, F. (1999). The intercellular adhesion (*ica*) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infection and immunity*, 67(10), 5427-5433.
- Cristina M, Sartini M et Spagnolo A, 2019 , *Serratia marcescens* Infections in Neonatal Intensive Care Units (NICUs). *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Feb; 16(4): 610.

(D)

- Da Costa P.M, Loureiro L, Matos A.J, 2013, Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: The interface between humans, animals and the environment. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10(1): 278–294.
- De Abreu PM, Farias PG, Paiva GS, Almeida AM, Morais PV, 2014, Persistence of microbial communities including *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. *BMC Microbiol*, 14:118.
- DE KENITRA-MAROC, I. D. R. I. S. S. I. ROLE DE L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER DANS LA PREVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES: SURVEILLANCE DE LA FLORE DES SURFACES A L'HOPITAL EL.
- De Sousa, T., Hébraud, M., Dapkevicius, M. L. E., Maltez, L., Pereira, J. E., Capita, R., ... & Poeta, P. (2021). Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12892.
- Decoster A. & Lahieu J.C, 2006, Cours de Bactériologie : Les entérobactéries. Disponible sur : [http : //anne.decoستر.free.fr/bgn/enterob.html](http://anne.decoستر.free.fr/bgn/enterob.html).
- Delarras, C. (1998). Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques: enseignement commun et préparatoire à Génie de l'environnement (p. 1). G. Morin Europe.
- Delarras, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.
- Diène SM, Rolain JM, 2014, Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect*, 2014 Sep;20(9):831-8.
- Dioman AS., 2008, Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au chu du point G. Université bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. 1-51.
- Directives de l'OMS sur l'hygiène des mains dans les soins de santé., 2009. Disponible sur : <https://www.who.int/gpsc/5may/tools/9789241597906/en/>

- Doughari H.J, Ndakidemi P.A, Human I.S, Benade S, 2011. Ecologie, biologie et pathogénèse d'*Acinetobacter* spp : Un aperçu. *Microbes and Environments*, 26 (2), 101-112. doi: 10.1264 / jsme2.me10179.
- Duval, A. (2019). Comprendre et contrôler la transmission des bactéries multirésistantes par l'analyse et la modélisation des réseaux d'interactions interindividuelles en milieu hospitalier (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).

(E)

- ECDC, 2018, Centre européen de prévention et de contrôle des maladies. Résistance aux antimicrobiens (EARS-Net). ECDC. Rapport épidémiologique annuel pour 2014 . Stockholm. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-ears-net-annual-epidemiological-report-2014>.
- Eftekhar, F., & Esmaeeli Torkanpoory, N. (2018). Contribution of contaminated environmental surfaces to the transmission of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in special care units of a hospital in Tehran, Iran. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 6(2), 37-42.
- EL Bakkali M, Hmid K, Kari KE, Zouhdi M, Mzibri MEL, Laglaoui A, 2015, Characterization of bacterial strains and their resistance status in Hospital environment. *J Trop Dis*. 4(1):180.
- Erb A, Sturmer T, Marre R, Brenner H, 2007, Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: Overview of geographical, temporal, and methodological variations. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, 26, 83–90.
- Eyquem, A., Alouf, J., & Montagnier, L. (Eds.). (2000). *Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments*. Piccin.

(F)

Références bibliographiques

- Faure, S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).
- Figueiredo, S. (2011). *Acinetobacter* spp. et réservoir de gènes de carbapénèmases (Doctoral dissertation, Paris 11).
- Filgona J, Banerjee T, Anupurba S, 2015, Role of efflux pumps inhibitor in decreasing antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in North India. *J Infect Dev Ctries* , 9(8):815-20, doi: 10.3855/jidc.6216.
- Flemming, H. C., Neu, T. R., & Wozniak, D. J. (2007). The EPS matrix: the “house of biofilm cells”. *Journal of bacteriology*, 189(22), 7945-7947.
- Fournier P.E, Richet H, 2006, The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*, 42(5):692-9. doi: 10.1086/500202.
- Frikh, M., Maleb, A., Ablavi, I. N., Elouennass, M., & Lemouer, A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*: Epidémiologie et état actuel des résistances Etude retrospective sur trois ans. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, 21(2), 34-40.

(G)

- Garrity GM.,Bell JA.,Lilburn TG.,2004,2eme edition, Le Manuel de bactériologie systématique de Bergey,P114
- Gastmeier P, Schwab F, Bärwolff S, Rüden H, Grundmann H, 2006, Correlation between the genetic diversity of nosocomial pathogens and their survival time in intensive care units. *J Hosp Infect* 62: 181-186.
- Ghadiri H, Vaez H, Khosravi S, Soleymani E, 2012, The Antibiotic Resistance Profiles of Bacterial Strains Isolated from Patients with Hospital-Acquired Bloodstream and Urinary Tract Infections. *Crit Care Res Pract*. 2012:e890797. doi:10.1155/2012/890797.
- Girlich, D., Bonnin, R. A., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus* spp. *Frontiers in microbiology*, 11, 256
- Giuffrè, M., Geraci, D. M., Bonura, C., Saporito, L., Graziano, G., Insinga, V., ... & Mammaia, C. (2016). The increasing challenge of multidrug-resistant gram-negative

bacilli: results of a 5-year active surveillance program in a neonatal intensive care unit. *Medicine*, 95(10).

- Grigorenko, V., Uporov, I., Rubtsova, M., Andreeva, I., Shcherbinin, D., Veselovsky, A., ... & Egorov, A. (2018). Mutual influence of secondary and key drug-resistance mutations on catalytic properties and thermal stability of TEM-type β -lactamases. *FEBS Open bio*, 8(1), 117-129.
- Grigorenko, V., Uporov, I., Rubtsova, M., Andreeva, I., Shcherbinin, D., Veselovsky, A., ... & Egorov, A. (2018). Mutual influence of secondary and key drug-resistance mutations on catalytic properties and thermal stability of TEM-type β -lactamases. *FEBS Open bio*, 8(1), 117-129.

(H)

- Hamidian M, Hall RM, 2014, Resistance to third-generation cephalosporins in *Acinetobacter baumannii* due to horizontal transfer of a chromosomal segment containing ISAbal-ampC. *J Antimicrob Chemother*, 69(10):2865-6. doi: 10.1093.
- Hamilton, A. L., Kamm, M. A., Ng, S. C., & Morrison, M. (2018). *Proteus* spp. as putative gastrointestinal pathogens. *Clinical microbiology reviews*, 31(3), e00085-17.
- Harrison, E., & Brockhurst, M. A. (2012). Plasmid-mediated horizontal gene transfer is a coevolutionary process. *Trends in microbiology*, 20(6), 262-267.
- Hart, T., & Shears, P. (1997). *Atlas de Poche de Microbiologie*, Flammarion
- *Medecine-Sciences*, 1997: *Atlas de Poche de Microbiologie* (Vol. 1). Bukupedia.
- Hathroubi, S., Mekni, M. A., Domenico, P., Nguyen, D., & Jacques, M. (2017). Biofilms: microbial shelters against antibiotics. *Microbial Drug Resistance*, 23(2), 147-156.
- Hennequin C, Forestier C, 2007, Influence of capsule and extended-spectrum β -lactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion. *Research in Microbiology* 158(2007) 339-347.
- Hernando-Amado, S., Blanco, P., Alcalde-Rico, M., Corona, F., Reales-Calderón, J. A., Sánchez, M. B., & Martínez, J. L. (2016). Multidrug efflux pumps as main players

in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. *Drug Resistance Updates*, 28, 13-27.

- Hochman S, Phillips M. 2020. *Acinetobacter* species, p 2718–2724. In Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.
- Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., & Ciofu, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 35(4), 322-332.
- Hyun Koo, Allan RN, Howlin RP, Hall-Stoodley L, and Stoodley P, 2017, Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2017 Dec; 15(12): 740–755.

(I)

- Iguchi A, Nagaya Y, Pradel E, Ooka T, Ogura Y, Katsura K, Kurokawa K, Oshima K, Hattori M, Parkhill J, 2014, Genome Evolution and Plasticity of *Serratia marcescens*, an Important Multidrug-Resistant Nosocomial Pathogen. *Genome Biol Evol* ,6(8): 2096–2110.

(J)

- Jarlier, V. (2019). La transmission croisée dans la résistance aux antibiotiques: son contrôle dans les hôpitaux français. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 203(3-4), 170-178.
- Jeon JH, Lee JH, LeeJJ, Park KS, Karim AM, LeeCR, Jeong BC, and Lee SH, 2015, Structural Basis for Carbapenem-Hydrolyzing Mechanisms of Carbapenemases Conferring Antibiotic Resistance. *Int J Mol Sci*, 16(5): 9654–9692.
- JM, O. A. M. S. R. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria *Front. Microbiol*, 5, 643.
- Johnson T.J, Logue C.M, Johnson J.R, Kuskowski M.A, Sherwood J.S, Barnes H.J, DebRoy C, Wannemuehler Y.M, Obata-Yasuoka M, Spanjaard L Nolan L, 2012, Associations between multidrug resistance, plasmid content, and virulence

potential among extraintestinal pathogenic and commensal *Escherichia coli* from humans and poultry. *Foodborne Pathog. Dis.* 2012, 9, 37–46.

- Jones, R. A., Shropshire, H., Zhao, C., Murphy, A., Lidbury, I., Wei, T., ... & Chen, Y. (2021). Phosphorus stress induces the synthesis of novel glycolipids in *Pseudomonas aeruginosa* that confer protection against a last-resort antibiotic. *The ISME journal*, 15(11), 3303-3314.
- Joseph D Lutgring, 2019, Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: An emerging bacterial threat. *Semin Diagn Pathol*, 36(3):182-186. doi: 10.1053.

(K)

- Kaczmarek FM, Dib-Hajj F, Shang W, Gootz TD, 2006, High-level carbapenem resistance in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate is due to the combination of bla(ACT-1) beta-lactamase production, porin OmpK35/36 insertional inactivation, and down-regulation of the phosphate transport porin phoE. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(10):3396-406, doi: 10.1128/AAC.00285-06.
- Kaper J, Nataro J, Mobley H, 2004, Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* volume 2, pages123–140.
- Kayser, F. H., Böttger, E. C., Zinkernagel, R. M., Haller, O., Eckert, J., & Deplazes, P. (20). *Manuel de poche de microbiologie médicale*. Flammarion Médecine-Sciences.
- Khayar, Y. (2011). *Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse]*. Rabat : Université Mohammed V de Rabat, 2011.
- Khodare, A., Kale, P., Pindi, G., Joy, L., & Khillan, V. (2020). Incidence, microbiological profile, and impact of preventive measures on central line-associated bloodstream infection in liver care intensive care unit. *Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 24(1), 17.

Références bibliographiques

- Kornelsen V , Kumar A,2021, Update on Multidrug Resistance Efflux Pumps in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* ,2021 Jun 17;65(7):e0051421. doi: 10.1128/AAC.00514-21.
- Kovacic, A., Music, M. S., Dekic, S., Tonkic, M., Novak, A., Rubic, Z., ... & Goic-Barisic, I. (2017). Transmission and survival of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outside hospital setting. *International Microbiology*, 20(4), 165-169.
- Kumar, A., & Schweizer, H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Advanced drug delivery reviews*, 57(10), 1486-1513.

(L)

- Lee, K., & Yoon, S. S. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm, a programmed bacterial life for fitness.
- Liassine N , 2000, Problème des pathogènes Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr*. 130 : 1930-6.
- Lin M. F, Lin Y. Y, Yeh H. W, Lan C. Y, 2014, Role of the BaeSR two-component system in the regulation of *Acinetobacter baumannii* adeAB genes and its correlation with tigecycline susceptibility. *BMC Microbiol*, 14:119. doi: 10.1186/1471-2180-14-119.
- Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 582-610.
- Liu B , Furevi A, Perepelov A, Xi Guo , Cao H , Wang Q , Reeves P , Knirel Y , Wang L ,et Widmalm G, 2019, Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS Microbiol Rev*, 2020 Nov 24;44(6):655-683.
- Lopez-Cerero, L. (2013). Role of the hospital environment and equipment in the transmission of nosocomial infections. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiologia Clinica*, 32(7), 459-464.

(M)

- Ma, H., & Bryers, J. D. (2013). Non-invasive determination of conjugative transfer of plasmids bearing antibiotic-resistance genes in biofilm-bound bacteria: effects of

substrate loading and antibiotic selection. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(1), 317-328.

- Maltezou HC, Tryfinopoulou K, Katerelos P, et al. Consecutive *Serratia marcescens* multiclone outbreaks in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control*. 2012;40:637–642.
- Maria Luisa Cristina , Marina Sartini et Anna Maria Spagnolo, 2019, *Serratia marcescens* Infections in Neonatal Intensive Care Units (NICUs). *Int J Environ Res Public Health*,16(4):610.doi: 10.3390/ijerph16040610.
- Martin, C. (2011). Bacilles à Gram négative non fermentaires. Denis F, Poly MC, Martin C, Bingén E, Quentin R. *Microbiologie médicale*. 2ème édition. Elsevier Masson, 107-115.
- Méité S, Boni-cissé C, Monemo P, Mlan tanoa AP, Faye-ketté H, Dosso H, 2010, Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau tertiaire : exemple du CHU de Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire . *J. sci. pharm. biol.*, Vol.11, n°1 - 2010, pp. 73-81.
- Mellouli, A., Maamar, B., Bouzakoura, F., Messadi, A. A., & Thabet, L. (2021). Colonisation Et Infection À *Acinetobacter Baumannii* Dans Une Unité De Réanimation Des Brûlés En Tunisie. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 34(3), 218.
- Mérens, A., Janvier, F., Vu-Thien, H., Cavallo, J. D., & Jeannot, K. (2012). Phénotypes de
- Mérens, A., Janvier, F., Vu-Thien, H., Cavallo, J. D., & Jeannot, K. (2012). Phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012(445), 59-74.
- Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha SN, Rolain JM, 2013, Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *Int J Infect Dis* 2013;17:e739–43.

Références bibliographiques

- MEUNIER O, HERNANDEZ C, PIROIRD M, HEILIGR, STEINBACH D, FREYD A, 2005, Prélèvements bactériologiques des surfaces : importance de l'étape d'enrichissement et du choix des milieux de culture. *Ann Biol Clin*; 63(5) : 481-6.
- Mhaya, A. (2019). Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques (Doctoral dissertation, Bordeaux).
- Moroh, J. L. A. (2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne occidentale-Brest).
- Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". In *Annales de Médecine vétérinaire* (Vol. 156). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.

(N)

- Naas T, Dortet L, Iorga BI, 2016, Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases. *Curr Drug Targets*, 2016;17(9):1006-28. doi: 10.2174/1389450117666160310144501.
- Nabil A Nimer, 2022, Nosocomial Infection and Antibiotic-Resistant Threat in the Middle East. *Infect Drug Resist*. 2022; 15: 631–639.
- Neonakis, I., Gikas, A., Scoulica, E., Manios, A., Georgiladakis, A., & Tselentis, Y. (2003). Evolution of aminoglycoside resistance phenotypes of four Gram-negative bacteria: an 8-year survey in a University Hospital in Greece. *International journal of antimicrobial agents*, 22(5), 526-531.
- Nicolas-Chanoine, M. H., Blanco, J., Leflon-Guibout, V., Demarty, R., Alonso, M. P., Caniça, M. M., ... & Johnson, J. R. (2008). Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25: H4-ST131 producing CTX-M-15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(2), 273-281.
- Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78, 119.

Références bibliographiques

- Noskin, G. A., Stosor, V., Cooper, I., & Peterson, L. R. (1995). Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 16(10), 577-581.
- NOUNSI, N. (2019). Pénurie en antibiotiques: Quelles alternatives? (Doctoral dissertation).

(O)

- Oie, S., Hosokawa, I., & Kamiya, A. (2002). Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection*, 51(2), 140-143.
- Olsen I, 2015, Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 34(5):877-86. doi: 10.1007/s10096-015-2323-z.
- Otter, J. A., Yezli, S., & French, G. L. (2011). The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 32(7), 687-699.
- Owens R. C. and Rice L. (2006). Hospital-Based Strategies for Combating Resistance. *Clin Infect Dis*. 42 (S4) : 173-181.

(P)

- Paolozzi, L. (2015). *Microbiologie: biologie des procaryotes et de leurs virus*. Dunod.
- Parkins, M. D., Somayaji, R., & Waters, V. J. (2018). Epidemiology, biology, and impact of clonal *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *Clinical microbiology reviews*, 31(4), e00019-18.
- Peirano, G., Matsumura, Y., Adams, M. D., Bradford, P., Motyl, M., Chen, L., ... & Pitout, J. D. (2018). Genomic epidemiology of global carbapenemase-producing *Enterobacter* spp., 2008–2014. *Emerging infectious diseases*, 24(6), 1010.
- Pitout, J. D. (2010). Infections with extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Drugs*, 70(3), 313-333.

(Q)

Références bibliographiques

- Qin, S., Qi, H., Zhang, Q., Zhao, D., Liu, Z. Z., Tian, H., ... & Liu, H. M. (2015). Emergence of extensively drug-resistant *Proteus mirabilis* harboring a conjugative NDM-1 plasmid and a novel *Salmonella* genomic island 1 variant, SGI1-Z. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(10), 6601-6604.

(R)

- Rahal,K.,Benslimani,A.,Tali-maamar.H.2020.Standardisation des tests de la sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale.Édité avec la collaboration de l'OMS.8^{ème} édition .Algérie.
- Rawat, D., & Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of global infectious diseases*, 2(3), 263.
- Résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012(445), 59-74.
- Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Pascual A, 2018, Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*, 31(2): e00079-17.
- Roy S, Chowdhury G, Mukhopadhyay A.K, Shanta Dutta, and Basu S,2022, Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. *Front Med (Lausanne)* , 9: 793615. doi: 10.3389/fmed.2022.793615
- Roy, S., Chowdhury, G., Mukhopadhyay, A. K., Dutta, S., & Basu, S. (2022). Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. *Frontiers in Medicine*, 9.
- Ruppé É, Woerther PL, Barbier F, 2015, Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care*. 2015; 5: 21.

(S)

- Saadi S, Allem R, Sebahia M, Merouane A & Bakkali M ,2021, Bacterial contamination of neglected hospital surfaces and equipment in an Algerian hospital:

an important source of potential infection. INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL HEALTH RESEARCH,
DOI: 10.1080/09603123.2021.1885631.

- Said D , Willrich N, Ayobami O, Noll I , Eckmanns T, and Markwart R, 2021, The epidemiology of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* complex in Germany (2014–2018): an analysis of data from the national Antimicrobial Resistance Surveillance system. *Antimicrob Resist Infect Control*, 10: 45.
doi: 10.1186/s13756-021-00909-8.
- Sanchez, C. J., Mende, K., Beckius, M. L., Akers, K. S., Romano, D. R., Wenke, J. C., & Murray, C. K. (2013). Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC infectious diseases*, 13(1), 1-12.
- Sanchez, C. J., Mende, K., Beckius, M. L., Akers, K. S., Romano, D. R., Wenke, J. C., & Murray, C. K. (2013). Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC infectious diseases*, 13(1), 1-12.
- Saouide el ayne N .,2014, ROLE DE L’ENVIRONNEMENT HOSPITALIER DANS LA PREVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES: SURVEILLANCE DE LA FLORE DES SURFACES A L’HOPITAL EL IDRISSE DE KENITRA. *journal scientifique europeen* , vol.10, No.9 .
- Saralegui C, Ponce-Alonso M, Pérez-Viso B, Alegre L, Escribano E, Lázaro-Perona F, Lanza V, Pipaón M, Rodríguez J, Baquero F, and Campo R , 2020, Genomics of *Serratia marcescens* Isolates Causing Outbreaks in the Same Pediatric Unit 47 Years Apart: Position in an Updated Phylogeny of the Species. *Front Microbiol*. 2020; 11: 451.
- Schillaci, D., Arizza, V., Parrinello, N., Di Stefano, V., Fanara, S., Muccilli, V., ... & Molin, S. (2010). Antimicrobial and antistaphylococcal biofilm activity from the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of applied microbiology*, 108(1), 17-24.
- Ségolène M, 2016, Mémoire de Magistère Caractérisation de souches d’*Escherichia coli* pathogène urinaires provenant de Guadeloupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence présents, Université du Québec, p 1-4.

Références bibliographiques

- Shinde MB, Mohite VR, 2014, A study to assess knowledge, attitude and practices of five moments of hand hygiene among nursing staff and students at a tertiary care hospital at Karad. *Int J Sci Res.* 2014;3:311–321.
- Singh A , Padmesh S, Dwivedi M, Kostova I, 2022, How Good are Bacteriophages as an Alternative Therapy to Mitigate Biofilms of Nosocomial Infections. *Infect Drug Resist* , 17;15:503-532.doi: 10.2147/IDR.S348700.
- Singh, J. K., Adams, F. G., & Brown, M. H. (2019). Diversity and function of capsular polysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3301.
- Spiers, A. J., Buckling, A., & Rainey, P. B. (2000). The causes of *Pseudomonas* diversity. *Microbiology*, 146(10), 2345-2350.
- Sserwadda I, Lukenge M, Mwambi B, Mboowa G, Walusimbi A, Segujja F, 2018, Microbial contaminants isolated from items and work surfaces in the post-operative ward at Kawolo general hospital, Uganda. *BMC Infect Dis.* 18 (1). doi:10.1186/s12879-018-2980-5.

(T)

- Tacconelli E, Magrini N, Kahlmeter G, Singh N. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: World Health Organization; 2017.
- Talon, D. (1999). The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. *Journal of Hospital Infection*, 43(1), 13-17.
- Tapouk, F. A., Nabizadeh, R., Mirzaei, N., Jazani, N. H., Yousefi, M., & Hasanloei, M. A. V. (2020). Comparative efficacy of hospital disinfectants against nosocomial infection pathogens. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1), 1-7.

(U)

- Umadevi, S., Joseph, N. M., Kumari, K., Easow, J. M., Kumar, S., Stephen, S., ... & Raj, S. (2011). Detection of extended spectrum beta lactamases, ampc beta

lactamases and metalloβ-lactamases in clinical isolates of ceftazidime resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1284-1288.

(W)

- Webber, M. A., & Piddock, L. J. V. (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 51(1), 9-11.
- Weber DJ, Anderson D, Rutala WA, 2013, The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Curr Opin Infect Dis*,26(4):338–344.
doi: 10.1097/QCO.0b013e3283630f04.
- Wendt C, Dietze B, Dietz E, Rüden H, 1997, Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 35: 1394-1397.
- Wong D ,Nielsen T.B , Bonomo R.A , Pantapalangkoor P, Luna B et Spellberg B ,2017, Présentation clinique et physiopathologique des infections à *Acinetobacter* : un siècle de défis.

(Y)

- Yan, S., & Wu, G. (2019). Can biofilm be reversed through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*?. *Frontiers in microbiology*, 10, 1582.

(Z)

- ZENATI K, 2010, Mémoire de Magistère , etude de la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds de souches d'enterobactéries isolées de l'environnement hospitalier. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia.
- Zenati K, Touati A, Bakour S, Sahli F, Rolain JM,2015, Characterization of NDM-1- and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in a hospital environment in Algeria. *J Hosp Infect*,92:19–26.
- Zhang Y, Mingmei D, Chang Y, Chen L, and Zhang Q,2017, Incidence, clinical characteristics, and outcomes of nosocomial *Enterococcus* spp. bloodstream infections in a tertiary-care hospital in Beijing, China: a four-year retrospective study. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017; 6: 73.

Références bibliographiques

- Zhang, Y., Du, M., Chang, Y., Chen, L. A., & Zhang, Q. (2017). Incidence, clinical characteristics, and outcomes of nosocomial *Enterococcus* spp. bloodstream infections in a tertiary-care hospital in Beijing, China: a four-year retrospective study. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6(1), 1-11.

Annexes

Annexes

➤ **Tableau :** les 4 zones de nettoyage selon la vulnérabilité des patients.

Zone	Type de patient	Type de nettoyage
A	Pas de patient	Nettoyage ménager courant
B	Non infecté ni hautement vulnérable	Nettoyage ne doit pas soulever de poussière
C	patients infectés	Nettoyage par solution détergente et changement de matériels utilisés
D	patients hautement vulnérables	Nettoyage par solution détergente et changement de matériels utilisés

(Duval ,2019).

➤ **Tableau :** Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries.

	<i>Esch</i>	<i>Citro</i>	<i>Entero</i>	<i>Kleb</i>	<i>Serr</i>	<i>Salm</i>	<i>Shig</i>	<i>Prot</i>	<i>Prov</i>	<i>Yers</i>	<i>Morg</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	-
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-	+
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-	-
Mob.	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+

(Decoster et Lahieu, 2006)

✚ Matériels non biologique**1. Verreries**

- Api 20E
- Boite pétrie
- Ecouvillons
- Lames et lamelles
- Pince métallique
- Pied à coulisse
- Pipette pasteur stérile
- Portoir
- Tubes à essai stérile
- Tubes sec

2. Appareillage

- Etuve
- Bec benzène
- Microscope optique
- Autoclave

3. Milieu de culture

- **BHIB**

Composition g/l

- Protéose-peptone.....10,0
- Infusion de cervelle de veau
.....12,5
- Infusion de cœur de bœuf
.....5,0
- Glucose2,0
- Chlorure de sodium.....5,0
- Hydrogénophosphate de
sodium.....2,5
- PH7,4

**(Photo originale)**

➤ Géluse nutritive

Composition g/l

- Peptone...10
- Extrait de viande... 3
- Extrait de levure.....3
- Chlorure de sodium.....5
- Agar... 18
- pH.....7,3



(Photo originale)

➤ Géluse hektoen

Composition g/l

- Peptone pepsique du viande.....15
- Extrait de viande... 3
- Extrait de levure.....3
- Chlorure de sodium.....5
- Sels biliaries..... 4
- Lactose..... 12
- Salicine...2
- Saccharose 12
- Fuchsine acide0.1
- Bleu de Bromothymol0.065
- Agar... 18
- Ph 7.3



(Photo originale)

➤ Muller-Hinton

Composition g/l

- Hydrolysate de Caséine... 17,5
- Extrait de viande..... 3
- Amidon 1,5
- Agar..... 16
- pH 7,3



(Photo originale)

➤ Mac conkey

Composition g/l

- peptone pancréatique de gélatine... 17
- peptone pancréatique de caséine..... 1,5
- peptone peptique de viande 1,5
- lactose... 10
- chlorure de sodium.....5
- sels biliaires.....1,5
- rouge neutre0,03
- violet de gentiane... 0,001
- agar.....13,5
- ph.....7,2



(Photo originale)

➤ **Rouge de congo**

Composition g/l

- BHIB.....37
- Saccharose..... 50
- Gélose.....10
- Rouge congo.....8



(Photo originale)

4. Les réactifs d'API 20 E



(Photo originale)

5. Les solutions et les disques imprégnés

- Violet de Gentien + lugol + fuschine + alcool (pour la coloration de Gram)



(Photo originale)

- L'eau oxygénée
- L'eau distillé stérile
- L'eau physiologique
- L'huile a immersion
- L'huile de vaseline
- Disque d'oxydase
- Disques d'antibiotiques