



جامعة أبو بكر بلقايد
ⵜⴰⵎⴰⵎⴻⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⴻⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⴻⵜ
UNIVERSITÉ DE TLEMCCEN



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à
L'environnement « LAMAABE »

THESE

Présentée par

Mr BOUTARFI Zakaria

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Microbiologie appliquée

Thème

**Étude de la résistance aux antimicrobiens d'une
collection de bacilles à Gram négatif isolée du
CHU de Tlemcen**

Soutenue le .../.../...

Devant le jury

Président	Pr Hafida HASSAINE	Université de Tlemcen
Examineur	Pr Rachid DJIBAQUI	Université de Mostaganem
Examineur	Dr Lamia BOUBLEZA	Université de Tlemcen
Examineur	Dr S.M Lahbib SEDDIKI	UC.Univ Naama
Encadreur	Pr Sid Ahmed REBIAHI	Université de Tlemcen

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à
L'environnement « LAMAABE »**

THESE

Présentée par

Mr BOUTARFI Zakaria

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Microbiologie appliquée

Thème

**Étude de la résistance aux antimicrobiens d'une
collection de bacilles à Gram négatif isolée du
CHU de Tlemcen**

Soutenue le .../.../...

Devant le jury

Président	Pr Hafida HASSAINE	Université de Tlemcen
Examineur	Pr Rachid DJIBAOUI	Université de Mostaganem
Examineur	Dr Lamia BOUBLEZA	Université de Tlemcen
Examineur	Dr S.M Lahbib SEDDIKI	UC,Univ Naama
Encadreur	Pr Sid Ahmed REBIAHI	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

Louange à dieu, Allah, le tout puissant et miséricordieux pour toute la volonté, le courage, la patience et la force qu'il m'a donné pour achever ce travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Professeur Sid-Ahmed Rebiahi pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail,

Merci pour le temps consacré à m'encadrer, et pour ses conseils et ses remarques pertinentes.

Je tiens à remercier aussi, le Professeur Antonio Galvez (Área de Microbiología, Universidad de Jaén, Spain) pour m'avoir donné la chance de réaliser une partie de cette thèse dans son laboratoire de recherche et a mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour l'accomplissement de ce travail,

Je le remercie pour sa disponibilité sans limite et pour tous ses conseils. Je témoigne ma reconnaissance au Pr Hafida Hassaine pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury.

Hommages respectueux aux

*Mr Rachid DJIBAQUI Professeur à l'université de de Mostaganem, S.M
Lahbib SEDDIKI maitre de conférence au centre univercitaire de naama et
Mme Lamia Boublenza maitre de conference a l'université de Tlemcen pour
pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail et d'avoir accepté de
l'examiner*

ملخص

إن بيئة المستشفى عبارة عن خزان ضخم من العصيات سالبة الجرام المقاومة لمضادات الميكروبات والتي يمكن أن تصل إلى المرضى وتسبب التهابات خطيرة.

كان الهدف من هذه الدراسة هو استكشاف العلاقة المحتملة بين مقاومة المضادات الحيوية وتحمل المبيدات الحيوية في العصيات سالبة الجرام المعزولة من مركز المستشفى الجامعي لتلمسان.

تضمنت هذه الدراسة 175 عزلة إكلينيكية من العصيات سالبة الجرام، وهي تهدف إلى استكشاف: مستوى ومقاومتها للمضادات الحيوية، وتحملها للمبيدات الحيوية بالإضافة إلى تحديد الدعامات الجينية لهذه المقاومة. تم عزل السلالات المدروسة من أسطح مختلفة في غرف العمليات في ثلاثة أقسام (قسم الاستجالات، قسم الجراحة أ، قسم جراحة العظام).

كان الجنس البكتيري الأكثر انتشارًا هو *Enterobacter*، يليه جنس *Acinetobacter*، وكانت جميع العزلات تحتوي على الأقل على واحد من الجينات المدروسة مع قدرة عالية المقاومة. تظهر نتائجنا في بعض الحالات وجود علاقة إيجابية محتملة بين وجود الجينات لتحمل المبيدات الحيوية وتلك المقاومة للمضادات الحيوية. في الواقع، يمكن أن يكون تحمل المبيدات الحيوية أحد العوامل في الاختيار المشترك لمقاومة المضادات الحيوية.

يجب أن تشجع نتائج الدراسة الحالية الممارسة الجيدة لتدابير النظافة وكذلك الاستخدام الرشيد لمضادات الميكروبات من أجل إعاقة تطور وظهور المقاومة في أقسام مستشفياتنا.

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية، العصيات سالبة الجرام، المبيدات الحيوية، بيئة المستشفى، المقاومة.

Résumé

L'environnement hospitalier constitue un immense réservoir de bacilles à Gram négatif résistants aux antimicrobiens qui peuvent ainsi atteindre les patients et provoquer de graves infections.

L'objectif de cette étude a été d'explorer la possible corrélation entre la résistance aux antibiotiques et la tolérance aux biocides chez les bacilles à Gram négatif isolés du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen.

Cette étude a porté sur 175 isolats cliniques de bacilles à Gram négatif, il s'agit d'explorer : leur niveau et leur profil de résistance aux antibiotiques, leur tolérance aux biocides ainsi que la mise en évidence des supports génétiques de cette résistance. Les souches étudiées ont été isolées à partir de différentes surfaces au niveau des blocs opératoire de trois services (UMC, CHA, TRM).

Enterobacter spp. a été le genre bactérien le plus prédominant suivi du genre *Acinetobacter*, tous les isolats ont hébergé au moins un des gènes étudiés avec une capacité importante de résistance. Nos résultats montrent dans certains cas une possible corrélation positive entre la présence de gènes de tolérance aux biocides et ceux de la résistance aux antibiotiques ; en effet la tolérance aux biocides pourrait être un des facteurs de la co-sélection de la résistance aux antibiotiques.

Les résultats de la présente étude doivent inciter à la bonne pratique des mesures d'hygiène ainsi qu'à l'utilisation rationnelle des antimicrobiens afin d'entraver le développement et l'émergence de la résistance au niveau de nos services hospitaliers.

Mots clés : *Antibiotiques, Bacilles à Gram négatif, Biocides, Environnement hospitalier, Résistance.*

Abstract

The hospital environment is a huge reservoir of antimicrobial resistant Gram-negative bacilli that can reach patients and cause serious infections.

The objective of this study was to explore the possible correlation between antibiotic resistance and biocide tolerance in Gram-negative bacilli isolated from the Tlemcen University Hospital Center.

This study involved 175 clinical isolates of Gram-negative bacilli, it is to explore their level and profile of resistance to antibiotics, their tolerance to biocides as well as the identification of genetic supports for this resistance. The strains studied were isolated from different surfaces in the operating theaters of three departments (UMC, CHA, TRM).

Enterobacter spp. was the most predominant bacterial genus followed by the genus *Acinetobacter*, all isolates harbored at least one of the genes studied with a significant capacity for resistance. Our results show in some cases a possible positive correlation between the presence of genes for tolerance to biocides and those for resistance to antibiotics; in fact, tolerance to biocides could be one of the factors in the co-selection of resistance to antibiotics.

The results of the present study should encourage the good practice of hygiene measures as well as the rational use of antimicrobials in order to hamper the development and emergence of resistance in our hospital services.

Keywords: Antibiotics, Gram-negative bacilli, Biocides, Hospital environment, Resistance.

Liste des abréviations

%	Pourcent
°C	Degré Celsius
AAC	Aminoglycosides N-acétyltransférases
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
ACP	Analyse de la composante principale
ADN	Acide désoxyribonucléique
AK	Amikacine
AMC	Amoxicilline + Acide clavulanique
AML	Amoxicilline
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine-Triphosphate
AZT	Aztréonam
BC	Chlorure de benzalkonium
BGN	Bactérie à Gram négatif
BHIB	<i>Brain heart infusion broth</i>
bla	Gène de résistance aux β -lactamines.
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
BLSE	Bêta-lactamases à spectre étendu
C	Chloramphénicol
CAQ	Composés d'ammonium quaternaire
CAZ	Céftazidime
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CHG	Chirurgie générale
CHU	Centre Hospitalo-universitaire
CHX	Chlorhexidine
CIP	Ciprofloxacine
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMP	Céfépime
CT	Cétrimide
CTX	Céfotaxime
CXM	Céfuroxime
DO	Densité optique
ECOFF	<i>Epidemiological cut-off</i>
EDTA	Éthylène-diamine-tétra-acétique
FOS	Fosfomycine
GN	Gentamycine
HCAI	<i>Health Care-Associated Infection</i>
HDP	Chlorure d'hexadécyl-pyridinium
I	Intermédiaire
IMP	Imipenème

ISO	Infection du site opératoire
KES	<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i>
LPS	Lipopolysaccharides
MATE	Multi Drug and toxin efflux
MF	<i>Major facilitator</i>
NA	Acide nalidixique
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
nm	Nanomètre
OFL	Ofloxacin
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PHMB	Biguanide polyhexaméthylène
R	Résistant
RIF	Rifampicine
RND	Resistance nodulation division
S	Sensible
SMR	<i>small multridrug resistance</i>
spp.	Espèce
SXT	Sulfamethoxazole + trimethoprime
TBE	Tris-Borate-EDTA
TC	Triclosan
TCC	Ticarcilline + Acide clavulanique
TIC	Ticarcilline
TOB	Tobramycine
TRM	Chirurgie ortho-traumatologie
TSB	Bouillon tryptone caséine soja
TZP	Pipéracilline + Tazobactam
UDP	Uridine diphosphate glucose
UFC/ml	Unité Formant Colonie/ millilitre
UMC	Urgences médico-chirurgical
UV	Ultraviolet
µl	Microlitre

Liste des figures

N	Titre	Page
01	Coupe transversale de la paroi abdominale illustrant la classification du CDC des infections du site opératoire	7
02	Historique de la découverte des antibiotiques	8
03	Exemple de mécanisme de résistance intrinsèque	14
04	Mécanismes moléculaires de l'acquisition de la résistance	15
05	Structure de la paroi des bacilles à Gram négatif	16
06	Structure d'AcrB et mécanisme de rotation fonctionnelle de l'extrusion du médicament par le système d'efflux de RND AcrAB-TolC	18
07	Modification de la cible	19
08	Mécanisme général des Ser- β -lactamases et des métallo- β -lactamases	20
09	Catalyse d'un aminoglycoside par Aminoglycoside acetyltransferases (AAC)	22
10	Résistance aux antimicrobiens dans les biofilms	23
11	Structure générale des ammoniums quaternaires	26
12	Mécanisme d'action des ammoniums quaternaires	27
13	Structure générale des biguanides	28
14	Mode d'action de la Chlorhexidine	29
15	Structure de glutaraldéhyde et formaldéhyde	30
16	Structure chimique de l'éthanol et de l'isopropanol	32
17	Structure du Triclosan	33
18	Représentation schématique d'une pompe à efflux	37
19	Structure du regulon MAR chez <i>E. coli</i>	40
20	Représentation schématique du protocole de la conservation à -80°C	40
21	Taux de prélèvements positifs et négatifs	48
22	Fréquences des espèces isolées	49
23	Taux d'isolement en fonction des services	52
24	Distribution des souches isolées du service des urgences médico-chirurgicales	53
25	Distribution des souches isolées du service de chirurgie A	54
26	Distribution des souches isolées du service d'orthopédie-traumatologie	55

27	Distribution des souches en fonction du site de prélèvement	56
28	Résistance aux antibiotiques des isolats	57
29	Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>Enterobacter</i> spp.	60
30	Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>E. coli</i>	61
31	Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>Klebsiella</i> spp.	62
32	Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>Citrobacter</i> spp.	62
33	Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>A. baumannii</i>	63
34	Distribution graphique des CMI chez les différentes souches d' <i>E. cloacae</i> et <i>E. hormaechei</i>	67
35	Détection du gène <i>mdfA</i>	68
36	Fréquence de la détection des gènes étudiés	69
37	Détection du gène <i>qacA1</i>	70
38	Détection du gène <i>bla_{TEM}</i>	71
39	Détection du gène <i>aac(6')Ib</i>	72
40	Détection du gène <i>aadA</i>	73
41	Fréquence de la détection des gènes étudiés chez <i>Enterobacter</i> spp.	74
42	Fréquence de la détection des gènes étudiés chez <i>Klebsiella</i> spp.	76
43	Taux de la détection des gènes étudiés chez <i>A. baumannii</i>	78
44	Analyse de la composante principale des différents gènes détectés	79

Liste des tableaux

N	Titre	Page
01	Bactéries à Gram négatif, fréquemment isolées dans les cas d'infections nosocomiales	4
02	Incidence et mortalité estimées de certains agents pathogènes à Gram-négatifs résistants aux antibiotiques aux États-Unis	5
03	Liste des antimicrobiens à usage humain et vétérinaire	9
04	Les stratégies enzymatiques de l'inactivation des antibiotiques	21
05	Les amorces utilisées pour la détection des gènes étudiés	46
06	Fréquences de prélèvement par site	48
07	CMI des biocides enregistrées chez les souches d' <i>Enterobacter</i> spp.	64
08	Corrélation entre les gènes de résistance détectés	81

Table des matières

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1- Les bacilles à Gram négatif dans l'environnement hospitalier.....	3
2- Les infections associées aux soins dues aux bacilles à Gram négatif	3
2.1- Types d'infections associées aux soins	5
2.1.1 -Bactériémie sur cathéter vasculaire	5
2.1.2 -Pneumonie acquise sous ventilation mécanique.....	5
2.1.3 -Infection urinaire sur sonde.....	6
2.1.4 -Infections du site opératoire.....	6
3- Les antibiotiques	8
3.1- Classification des antibiotiques	8
3.1.1- Principales classes d'antibiotiques.....	8
3.2- La résistance aux antibiotiques.....	13
3.2.1- Les origines et l'accumulation de la résistance.....	13
3.2.1.1- La résistance intrinsèque.....	13
3.2.1.2- La résistance acquise.....	14
3.2.2-Mécanismes de résistance aux antibiotiques	15
3.2.2.1- Perméabilité de la membrane externe.....	15
3.2.2.2- Les systèmes d'efflux.....	17
3.2.2.3- Altération de la cible.....	18
3.2.2.4- Résistance enzymatique.....	19
3.2.2.4.1- Inactivation de l'antibiotique par hydrolyse.....	19
3.2.2.4.2-Inactivation de l'antibiotique par transfert d'un groupe chimique..	21
3.2.2.4.3- Biofilm et résistance aux antimicrobiens.....	22
3.2.2.4.3.1- Pénétration retardée de l'antimicrobien.....	24
3.2.2.4.3.2- Altération du taux de croissance.....	24

3.2.2.4.3.3- Autres mécanismes.....	24
4- Les biocides.....	25
4.1- Les biocides en milieux hospitalier	25
4.2- Classification des biocides.....	25
4.2.1- Ammonium quaternaire	25
4.2.2- Biguanides.....	27
4.2.3- Aldéhydes.....	29
4.2.4 – Alcools.....	31
4.2.5- Phénols.....	32
4.2.6-Peroxygens.....	33
4.3- La tolérance bactérienne aux biocides	34
4.3.1-Mécanismes de tolérances aux biocides.....	34
4.3.1.1 - Mécanismes intrinsèques	35
4.3.1.2 -Mécanismes acquis	36
4.3.1.2 .1- Imperméabilité	36
4.3.1.2.2- Efflux.....	37
4.3.1.2.3- Biodégradation des biocides	38
4.3.1.2.4- Modification et altération des cibles.....	38
5-La résistance croisée entre biocides et antibiotiques	38
Matériel et méthodes	40
1-Cadre d'étude.....	40
2- Échantillonnage	40
3-Isolement bactérien, purification et conservation des souches.....	40
4- Identification par le système API 20E.....	41
5- Test de sensibilité aux antibiotiques.....	41
5.1-Principe.....	42
5.2-Technique	42
5.2.1-Préparation de l'inoculum.....	42
5.2.2-Ensemencement des boites	42
5.2.3-Application des disques d'antibiotiques.....	42
5.2.4-Conditions d'incubation.....	42
5.2.5-Lecture.....	42
6- Détermination de la tolérance aux biocides.....	43

7-Extraction de l'ADN.....	43
7.1-Préparation de l'échantillon.....	43
4.2-Protocole	43
4.3-Dosage et vérification de la pureté des extraits de l'ADN.....	44
8- Identification moléculaire des isolats	44
8.1-Amplification du gène ADNr 16S.....	44
8.2-Purification des amplicons.....	44
8.3-Séquençage et alignement des amplicons	44
9-Détection des gènes de résistance par PCR	45
9.1-Amplification des gènes	45
9.2-Électrophorèse sur gel d'agarose.....	47
9.2.1-Préparation du gel d'agarose.....	47
9.2.2-Dépôt des échantillons et migration.....	47
9.2.3-Révélation.....	47
10-Analyse statistique.....	47
Résultats et discussion	48
1- Résultats et discussion.....	50
2-Répartition des souches en fonction du groupe bactérien	50
2.1- Les entérobactéries	50
2.2- Les bacilles à Gram négatif non fermentaire.....	51
3-Répartition des souches en fonction des services.....	51
3.1- Répartition des souches dans le service des urgences médico-chirurgicales	52
3.2- Répartition des souches dans le service des Service de chirurgie A.....	53
3.3- Répartition des souches dans le service des Service d'orthopédie-traumatologie ...	55
4-Répartition des souches en fonction de l'origine du prélèvement	56
5- Étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	57
5.1-Les bêta-lactamines	57
5.2-Les aminosides	58
5.3-Les Quinolones.....	58
5.4-Autres antibiotiques	59
6- Répartition de la résistance aux antibiotiques par genre bactérien	59
6.1- <i>Enterobacter</i> spp.....	59
6.2- <i>Escherichia coli</i>	60

6.3- <i>Klebsiella</i> spp.....	61
6.4- <i>Citrobacter</i> spp.....	62
6.5- <i>Acinetobacter baumannii</i>	63
7-Tolérance aux biocides.....	63
8-Déterminants génétiques de la résistance.....	68
8.1- Répartition des gènes détectés en fonction du genre bactérien	74
8.1.1- <i>Enterobacter</i> spp.....	74
8.1.2- <i>Klebsiella</i> spp.....	75
8.1.3- <i>Acinetobacter baumannii</i>	77
8-Corrélation entre la présence des différents gènes de résistance.....	78
Conclusion	82
Références bibliographiques	83
Annexes	



Introduction

Introduction

Les infections liées aux soins sont un défi majeur pour la sécurité des patients. Elles sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité significative, ces infections sont en grande partie dues à une transmission croisée, via les mains du personnel soignant contaminées, par contact direct avec le patient ou indirectement en touchant des surfaces environnementales contaminées. Le centre américain de contrôle et de prévention des maladies (CDC) indique que près de 1,7 million de patients hospitalisés contractent, chaque année, des HCAI alors qu'ils sont traités pour d'autres problèmes de santé et que plus de 98 000 de ces patients (un sur 17) meurent des suites des HCAI (Sartelli et *al.*, 2018).

En Algérie et selon la déclaration du ministre de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, en 2012 « les infections nosocomiales donnent un taux de prévalence national qui varie entre 12 et 15%» (journal *El moudjahid*, 2012).

Parmi les infections liées aux soins, celles causées par des bactéries à Gram négatif (BGN) sont les plus préoccupantes, vue leur capacité à réguler positivement ou à acquérir des gènes qui codent pour des mécanismes de résistance aux antimicrobiens, en particulier, en présence d'une pression de sélection. La diffusion mondiale de ces agents pathogènes « multirésistants » a considérablement réduit l'efficacité de notre arsenal antimicrobien et a augmenté la fréquence des échecs thérapeutiques.

Afin de contrôler la propagation de ces pathogènes, des efforts considérables, dont l'utilisation des produits désinfectants et détergents, ont été déployés. Ceci a conduit à une utilisation extensive des biocides sur les surfaces pouvant ainsi exercer une forte pression de sélection des mutants résistants. Bien que le phénomène de l'insensibilité bactérienne aux antibiotiques et celle aux biocides soit une évidence et semble augmenter, un débat est engagé aujourd'hui sur la possible émergence de la résistance aux biocides en milieu hospitalier et que cette résistance pourrait être accompagnée de celle des antibiotiques. Or, peu d'études ont pu confirmer cette co-résistance.

De ce fait, la présente thèse a été axée sur

- ✓ L'étude de la distribution et les profils de résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif au niveau de trois services de chirurgie au CHU de Tlemcen,
- ✓ La détermination de la capacité des souches isolées à tolérer les biocides

- ✓ L'exploration d'une possible corrélation entre la tolérance aux biocides et la résistance aux antibiotiques, en se basant sur des tests phénotypiques
- ✓ La caractérisation moléculaire des supports génétiques de cette résistance.



Synthèse bibliographique

1- Les bacilles à Gram négatif dans l'environnement hospitalier

Le dépistage environnemental peut permettre l'identification des agents pathogènes sur diverses surfaces hospitalières (**Dancer, 2011**).

Les hôpitaux offrent aux bactéries une occasion unique d'interagir, de proliférer et d'infecter les populations vulnérables. Ainsi, l'environnement hospitalier peut constituer un réservoir d'agents pathogènes nosocomiaux, tels que les entérobactéries multirésistantes, *Pseudomonas* spp., et *A. baumannii*. La prévalence de ces microorganismes multirésistants est en augmentation et ils domineront de plus en plus le microbiome de l'environnement hospitalier (**Gordon et al., 2017**). Cet environnement est, en effet, un réservoir important d'éléments génétiques mobiles, hébergés par différents types de bactéries, pouvant contribuer à la propagation et à l'émergence des gènes de résistance (**Shamsizadeh et al., 2017; Caselli et al., 2018; Weingarten et al., 2018**). Il a été suggéré que ce réservoir est en partie dû à l'utilisation de grandes quantités d'agents antimicrobiens dans les hôpitaux, ce qui conduit à la sélection de bactéries multirésistantes et à la forte probabilité de transfert horizontal de gènes dans les effluents hospitaliers (**Weingarten et al., 2018**).

2- Les infections associées aux soins dues aux bacilles à Gram négatif

Une infection est dite associée aux soins de santé, si elle survient pendant l'hospitalisation ou après la sortie du patient et si elle n'était ni présente ni en incubation au début de l'hospitalisation. Elle inclut les infections nosocomiales contractées dans un établissement de santé et couvre également les soins fournis en dehors des établissements de santé (**Ministère de la santé français, 2010**).

Les bacilles à Gram négatif (tableau 01), y compris la famille des *Enterobacteriaceae* et les bacilles à Gram négatif non fermentaire, tels que *Pseudomonas* spp et *Acinetobacter* spp, sont des acteurs majeurs des quatre types, les plus fréquents, d'infections nosocomiales : pneumonie, infection du site opératoire, infection des voies urinaires et bactériémie (**Gaynes, et Edwards, 2005; Mehrad et al., 2015**). Des données du *US National Healthcare Safety Network*, indiquent que les bactéries à Gram négatif sont responsables de plus de 30% des infections nosocomiales, et que ces bactéries sont prédominantes dans les cas de pneumonie associée à la ventilation (47%) et d'infections des voies urinaires (45%) (**Peleg et Hooper, 2010**).

Tableau 01 : Bactéries à Gram négatif, fréquemment isolées dans les cas d'infections nosocomiales (Peleg et Hooper, 2010).

Groupe bactérien	Especce
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp.</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Morganella morganii</i>
Bacilles à Gram négatif non fermentaire	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Burkholderia spp.</i>

Ce phénomène des infections acquises à l'hôpital se complique de plus en plus par le fait de l'émergence de la résistance bactérienne (Wright et Sutherland, 2007; Molton et al., 2013), ce qui limite considérablement les choix thérapeutique (Li et al., 2006) augmentant ainsi leurs l'indice de mortalité (tableau 02). Selon le *Centre of Disease Control* (CDC) en 2008, 13% des *E. coli* et *Klebsiella*, 17% des *P. aeruginosa* et 74% des *A. baumannii* isolés des unités de soins intensifs étaient multirésistants (CDC, 2011).

Tableau 02 : Incidence et mortalité estimées de certains agents pathogènes à Gram-négatifs résistants aux antibiotiques aux États-Unis (Mehrad et al., 2015).

Organismes	Cas annuels	Décès annuels
<i>Enterobacteriaceae</i> résistantes aux Carbapénèmes	9300	610
<i>Enterobacteriaceae</i> productrices de BLSE	26000	1700
<i>Acinetobacter</i> spp multirésistant	7300	500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant	6700	440
Total	49300	3210

2.1- Types d'infections associées aux soins

Les infections associées aux soins se divisent en quatre groupes principaux (Sartelli et al., 2018; CDC, 2019b).

2.1.1- Bactériémie sur cathéter vasculaire

La septicémie reste un événement potentiellement mortel et est le plus souvent associé à la présence d'un cathéter vasculaire central. Aux États-Unis, environ 30% de septicémies d'origine hospitalière sont dues à des Gram négatif. En présence d'une porte d'entrée adéquate, presque toutes les bactéries à Gram négatif peuvent causer une septicémie ; cependant, les organismes les plus communs incluent les espèces *Klebsiella*, *Escherichia coli*, les espèces d'*Enterobacter* spp. ainsi que *P. aeruginosa* (Peleg et Hooper, 2010).

2.1.2- Pneumonie acquise sous ventilation mécanique

La pneumonie d'origine hospitalière est l'infection, d'origine hospitalière, la plus courante, mettant en jeu le pronostic vital et la majorité des cas sont associés à une ventilation mécanique. Cette dernière survient chez environ 10 à 20% des patients sous ventilation pendant plus de 48 heures et est associée à une augmentation significative de la durée du séjour à l'hôpital, de la mortalité et des coûts (Peleg et Hooper, 2010). Les bacille à Gram négatif les plus communs de ce type d'infection sont les *Enterobacteriaceae* (*E.coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp. et *S. marcesens*), *P. aeruginosa*, et *A. baumannii* (Gaynes et Edwards, 2005).

2.1.3- Infections urinaires sur sonde

Environ 40% des infections nosocomiales sont d'origine urinaire. La plupart des patients atteints d'infections nosocomiales des voies urinaires ont subi une manipulation génito-urinaire ou urologique (environ 10 à 20%) ou un cathétérisme urétral permanent (environ 80%), ou les deux. La majorité des infections urinaires associées au cathéter proviennent de la propre flore colique du patient. Il a été montré que la plupart de ces infections urinaires nosocomiales étaient généralement associées à un cathéter (63% à 74%). Les patients avec un cathéter urinaire de tout type avaient un risque accru de survenue d'infection urinaire due à *Pseudomonas* spp. (Tenke et al., 2008).

Les bacilles à Gram négatif prédominent dans les infections des voies urinaires contractées à l'hôpital, qui sont presque toutes associées au cathétérisme urétral (Gaynes et Edwards 2005; Saint et al. 2008). Après le deuxième jour de cathétérisme, on estime que le risque de bactériurie augmente de 5 à 10% par jour. Aux États-Unis, des données indiquent qu'*E. Coli* est l'organisme étiologique à Gram négatif le plus courant, suivi, dans l'ordre décroissant, de fréquence par *P. aeruginosa*, les espèces du genre *klebsiella*, les espèces du genre *Enterobacter* et *A. baumannii* (Peleg, et Hooper, 2010).

2.1.4- Infections du site opératoire

Ces infections peuvent être des infections superficielles ou profondes, incisionnelles, ou des infections impliquant des organes ou des espaces corporels (Owens et Stoessel, 2008) (figure 01).

Elles sont généralement considérées comme associées aux soins lorsqu'elles surviennent dans les 30 jours suivant l'intervention ou, dans le cas d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériau prothétique introduit au cours de l'année qui suit l'intervention (MSF, 2010).

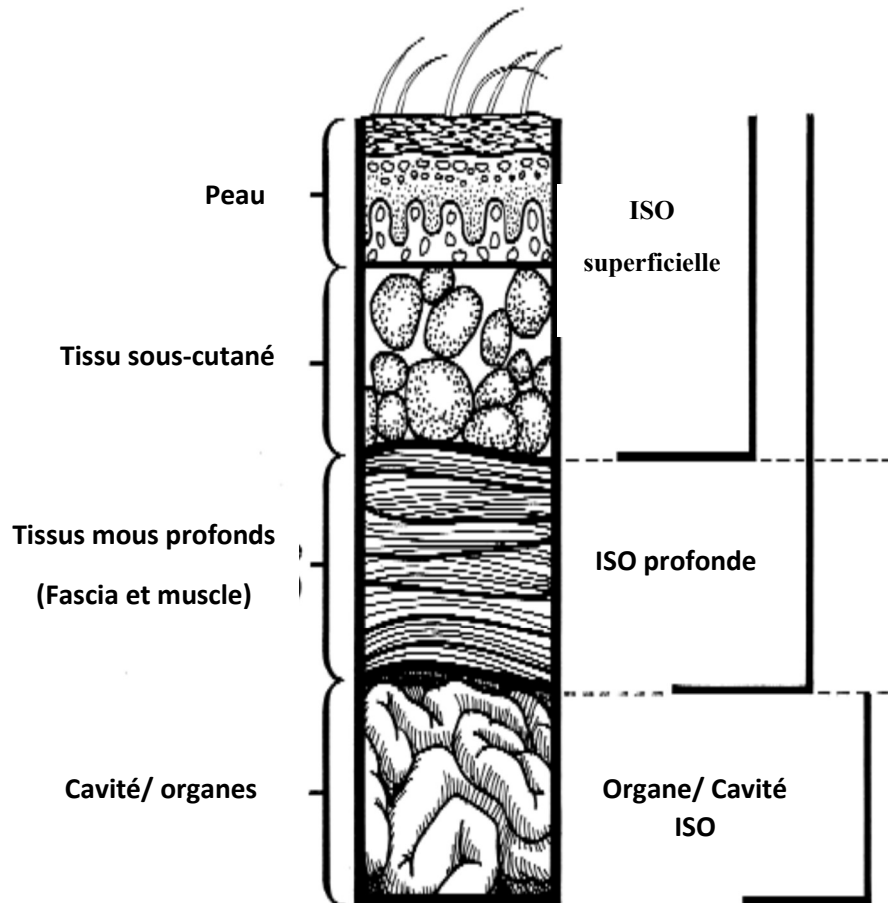


Figure 1 : Coupe transversale de la paroi abdominale illustrant la classification du CDC des infections du site opératoire ISO (Mangram *et al.*, 1999).

Dans la majorité des infections du site opératoire (ISO), les agents pathogènes responsables proviennent de la flore endogène du patient (Owens et Stoessel, 2008).

Les bacilles à Gram négatif sont associés à environ 33 % de ces infections (Gaynes et Edwards, 2005). Avec comme acteurs principaux les *Enterobacteriaceae* suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (Giacometti *et al.*, 2000). Il a été estimé que 39 % à 51% des pathogènes impliqués dans les infections du site opératoire sont résistants aux antibiotiques prophylactiques standards (Friedman *et al.*, 2016). Le CDC a enregistré en 2014, 157500 cas d'ISO avec un taux de mortalité estimé à 3 % (CDC, 2019a).

3- Les antibiotiques

Le terme antibiotique provient du mot « antibiosis », qui signifie littéralement « contre la vie ». Dans le passé, les antibiotiques étaient considérés comme des composés organiques produits par un microorganisme et toxiques pour d'autres microorganismes, en conséquence un antibiotique était défini à l'origine comme une substance produite par un microorganisme ou d'origine biologique qui, à de faibles concentrations, peut inhiber ou détruire d'autres microorganismes. Cependant, cette définition a été modifiée à l'époque moderne pour inclure les antimicrobiens également produits en tout ou en partie par des moyens synthétiques (**Etebu et Arikekpar, 2016**). L'historique de la découverte des différentes classes d'antibiotiques est résumé dans la figure 02.

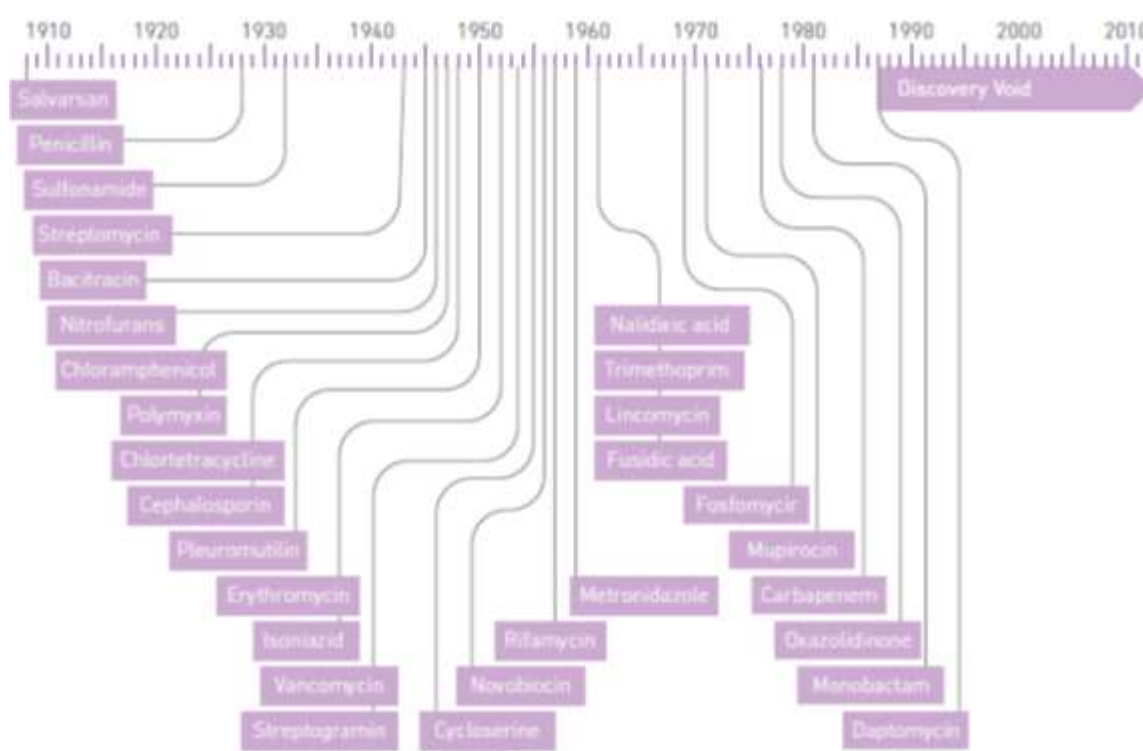


Figure 2 : Historique de la découverte des antibiotiques (Davies, 2011).

3.1- Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs systèmes de classification des antibiotiques, les plus communs reposent sur la structure chimique, leur mécanisme ou leur spectre d'action (**Adzitey, 2015; Etebu et Arikekpar, 2016**).

3.1.1- Principales classes d'antibiotiques

Le tableau 03 résume la classification des antibiotiques adoptée par l'OMS.

Tableau 03 : Liste des antimicrobiens à usage humain et vétérinaire (WHO, 2017).

Les classes	Médicaments utilisés en médecine humaine et vétérinaire
Aminoglycosides	Amikacine, arbekacine, bekanamycine, dibekacine, dihydrostreptomycine, Framycetine, gentamicine, isépamicine, kanamycine, néomycine, nétilmicine, ribostamycine, streptomycine, tobramycine
Ansamycines	Rifabutine, rifampicine, rifaximine, rifapentine, rifamycine
Carbapénèmes et autres pénèmes	Biapénème, doripenem, ertapénème, faropénème, imipénème, méropénem, panipénème
Céphalosporines (3ème, 4ème et 5ème génération)	Cefcapene, cefdinir, cefditoren, cefepime, cefetamet, cefixime, cefmenoxime, cefodizime, cefoperazone, cefoperazone-sulbactam, cefoselis, cefotaxime, ceftazidime, ceftazidime-avibactam, ceftibuten, ceftizoxime, ceftobiprole, ceftolozane, ceftaroline fosamil, ceftazidime, ceftazidime-avibactam, ceftibuten, ceftizoxime, ceftobiprole, ceftolozane, ceftriaxone, ceftriaxone-sulbactam, latamoxef, tazobactam
Glycopeptides et lipoglycopeptides	Dalbavancine, oritavancine, teicoplanine, télavancine, vancomycine
Glycylcyclines	tigecycline
Lipopeptides	daptomycin
Macrolides et Cétolides	Azithromycine, céthromycine, clarithromycine, dirithromycine, érythromycine, fidaxomicine, fluorithromycine, josamycine, midécamycine, miocamycine, oleetomycine, ramoplanine, rokitamycine, roxithromycine, spiramycine, télithromycine, troléetomycine, solithromycine

Monobactames	Aztréonam, carumoname
Oxazolidinones	Cadazolide, linézolide, radezolid, tedizolid
Pénicillines (naturelles, aminopénicillines et antipseudomonales)	Amoxicilline, amoxicilline-acide clavulanique, ampicilline, ampicilline-sulbactame, azidocilline, azlocilline, bacampicilline, carbénicilline, carindacilline, clométocilline, épécilline, hétacilline, métampicilline, méticilline, mezlocilline, pénamécilline, pénicilline G, pénicilline V, phénéticilline, pipéracilline, pipéracilline-tazobactam, pivampicilline, propicilline, sulbenicilline, sultamicilline, talampicilline, témocilline, ticarcilline, ticarcilline-acide clavulanique
Dérivés d'acide phosphonique	Fosfomycine
Polymyxines	Colistine, polymyxine B
Quinolones et fluoroquinolones	Bésifloxacin, cinoxacin, ciprofloxacine, delafloxacine, énoxacin, fleroxacin, flumequine, garenoxacin, gatifloxacine, gemifloxacine, grépafloracine, lévofloxacine, loméfloxacine, moxifloxacine, nadifloxacine, nalidixique acide, norfloxacine, ofloxacine, oxolinique acide, pazufloxacine, pefloxacine, Pipémidique acide, piromidique acide, prulifloxacine, rosoxacin, rufloxacine, sitafloxacine, sparfloxacine, témafloxacine
Médicaments utilisés uniquement pour traiter les maladies à mycobactéries	Bédaquiline, aminosalicilate de calcium, capréomycine, cyclosérine, delamanid, ethambutol, éthionamide, isoniazide, morinamide, acide para-aminosalicylique, protionamide, pyrazinamide, aminosalicilate de sodium, terizidone, tiocarlide

Amidinopénicillines	Mécilliname, pivmécilliname
Amphénicols	Chloramphenicol, thiamphenicol
Céphalosporines (1re et 2e générations) et céphamycines	Cefaclor, cefacetrile, cefadroxil, cefaloridine, céfalexine, cefalotin, céfametole, céfapirine, céfatrizine, cefazedone, céfazoline, cefbuperazone, cefmetazole, cefminox, céfonicide, ceforanide, céfotétan, cefotiam, céfoxitine, cefprozil, céfradine, cefroxadine, ceftazole, cefuroxime, flomoxef, loracarbef
Lincosamides	Clindamycine, lincomycine
Penicillins	Cloxacilline, dicloxacilline, flucloxacilline, oxacilline, nafcilline
Acides pseudomonique	mupirocine
Rimino-fenazines	clofazimine
Stéroïdes antibactériens	Acide fusidique
Stréptogramines	quinupristine-dalfopristine, pristinamycine
Sulfonamides, inhibiteurs de la dihydrofolate réductase et associations	Brodimoprime, iclaprime, pyriméthamine, sulfadiazine, sulfadiméthoxine, sulfadimidine, sulfafurazole, sulfaisodimidine, sulfalène, sulfamazone, sulfamérazine, sulfaméthizole, sulfaméthoxazole, sulfaméthoxy-pyridazine, sulfamétomidine, sulfaméthoxydiazine, sulfamétrole, sulfamoxole, sulfanilamide, sulfapérine, sulfaphénazole, sulfapyridine, sulfathiazole, sulfathiourée, tétraxoprime, triméthoprime
Sulfones	Aldesulfone, dapsone

Tetracyclines	Chlortetracycline, clomocycline, demeclocycline, doxycycline, lymecycline, metacycline, minocycline, omadacycline, oxytetracycline, penimepicycline, rolitetracycline, tetracycline
Aminocyclitoles	spectinomycine
Polypeptides cyclique	Metronidazole, ornidazole, tinidazole
Pleuromutilines	retapamuline

3.2- La résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques a été observée depuis l'introduction de ces molécules dans les années 1930 et 1940, cette résistance a augmenté régulièrement depuis. Ce qui est nouveau, c'est l'ampleur de la résistance et la pénurie de nouveaux antibiotiques homologués **(Davies, 2011)**.

Les micro-organismes résistants sont ceux qui ne sont pas inhibés par les antibiotiques. De ce fait, les infections causées par des micro-organismes résistants ne répondent souvent pas aux traitements, prolongeant ainsi la maladie et augmentant la mortalité **(Davies, 2011)**. Le nombre d'infections causées par des bactéries multirésistantes est en augmentation dans le monde et le spectre d'infections incurables devient une réalité **(Blair et al., 2015)**.

3.2.1- Les origines et l'accumulation de la résistance

Les bactéries peuvent être intrinsèquement résistantes à certains antibiotiques, mais peuvent également acquérir une résistance aux antibiotiques par le biais de mutations de gènes chromosomiques et par transfert horizontal de gènes **(Blair et al., 2015)**.

L'utilisation des antimicrobiens favorise les organismes résistants, par le biais de la sélection naturelle, leur permettant de proliférer tout en détruisant les plus sensibles. Au fil du temps, les bactéries résistantes finissent par dominer et les traitements deviennent inefficaces, l'émergence initiale de la résistance implique des événements génétiques aléatoires. L'ampleur de cette sélection est sous le contrôle de l'homme car elle reflète la fréquence d'utilisation des antibiotiques, la qualité de l'utilisation et l'efficacité du contrôle des infections **(Davies, 2011)**.

3.2.1.1- La résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque d'une espèce bactérienne à un antibiotique particulier (figure 03) est la capacité de résister à l'action de cet antibiotique en raison de caractéristiques structurelles ou fonctionnelles inhérentes **(Blair et al., 2015)**.

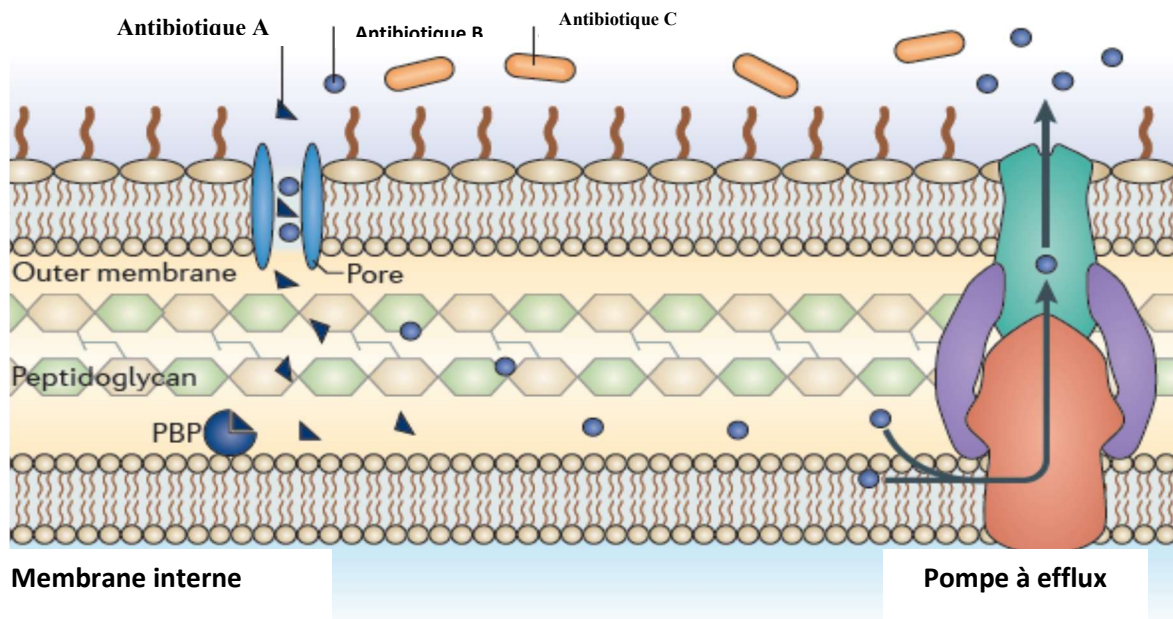


Figure 3 : Exemple de mécanisme de résistance intrinsèque (Blair *et al.* 2015).

La figure montre un aperçu des mécanismes de résistance intrinsèques. L'exemple présenté est celui des antibiotiques β -lactames ciblant une protéine de liaison à la pénicilline (PLP). L'antibiotique A peut pénétrer dans la cellule via une protéine porine traversant la membrane, atteindre sa cible et inhiber la synthèse du peptidoglycane. L'antibiotique B peut également pénétrer dans la cellule via une porine, mais contrairement à l'antibiotique A, il est efficacement éliminé par efflux. L'antibiotique C ne peut pas traverser la membrane externe et ne peut donc pas accéder au PLP cible.

3.2.1.2- La résistance acquise

Les bactéries peuvent devenir résistantes aux antibiotiques par mutation de gènes chromosomique. Ou elles peuvent acquérir du matériel génétique étranger en incorporant des segments d'ADN libre dans leur chromosome (transformation). Les gènes sont également transférés à la suite d'une infection par un bactériophage (transduction) ou par le biais de plasmides et de transposons conjugatifs au cours de la conjugaison (figure 4). Le terme général élément transposable a été utilisé pour désigner ; (1) une séquence d'insertion, (2) un transposon composite (composé), complexe et conjugatif, (3) un bactériophage transposant ou (4) un intégrom (Alekhun et Levy, 2015).

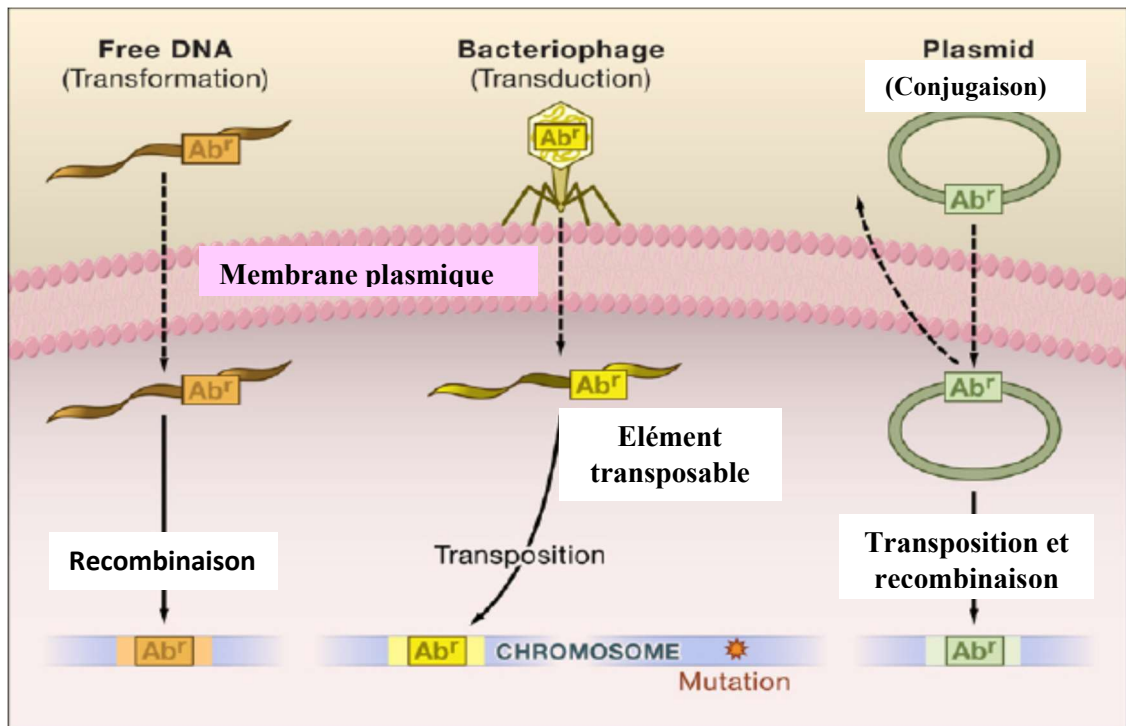


Figure 4 : Mécanismes moléculaire de l' acquisition de la résistance (Alekhshun et Levy, 2007).

3.2.2- Mécanismes de résistance aux antibiotiques

3.2.2.1- Perméabilité de la membrane externe

Chez les bactéries, la membrane cytoplasmique sert à séparer et à créer une barrière entre l'environnement externe et le cytoplasme. En raison de la composition en bicouche lipidique des membranes biologiques, ce sont des enveloppes souples auto-scellables. La fluidité d'une membrane a une influence directe sur l'étendue de la perméabilité : plus elle est flexible, plus elle est perméable. Toutefois, une diminution de la perméabilité, (et donc de la fluidité), aurait des effets néfastes sur la structure et l'activité des nombreuses protéines membranaires présentes dans cette bicouche. Pour contourner cette limitation, et comme acte de conservation personnelle, certaines bactéries assemblent des structures externes supplémentaires afin de servir de barrière de perméabilité retardant les substances potentiellement toxiques pour la bactérie (Cox et Wright, 2013).

Par comparaison aux bactéries à Gram positif, les bactéries à Gram-négatif sont intrinsèquement insensibles à beaucoup d'agents antibactériens en raison de la présence d'un tamis moléculaire fin, relativement imperméable, appelé membrane externe (figure 5) qui entoure un peptidoglycane relativement mince. La résistance intrinsèque conférée par la membrane externe est particulièrement apparente chez l'agent pathogène opportuniste *P. aeruginosa* dont la faible sensibilité intrinsèque aux antibiotiques est attribuée à sa perméabilité

réduite de la membrane externe, estimée à environ 8% seulement de celle d'*E. Coli* (Cox et Wright, 2013). La faible perméabilité de la membrane externe à base de lipopolysaccharide des bactéries à Gram négatif est compensée par l'existence de canaux protéiques (porines) (figure 5) permettant l'accès à des molécules de faible poids moléculaire, y compris certains antibiotiques (Tran *et al.*, 2012).

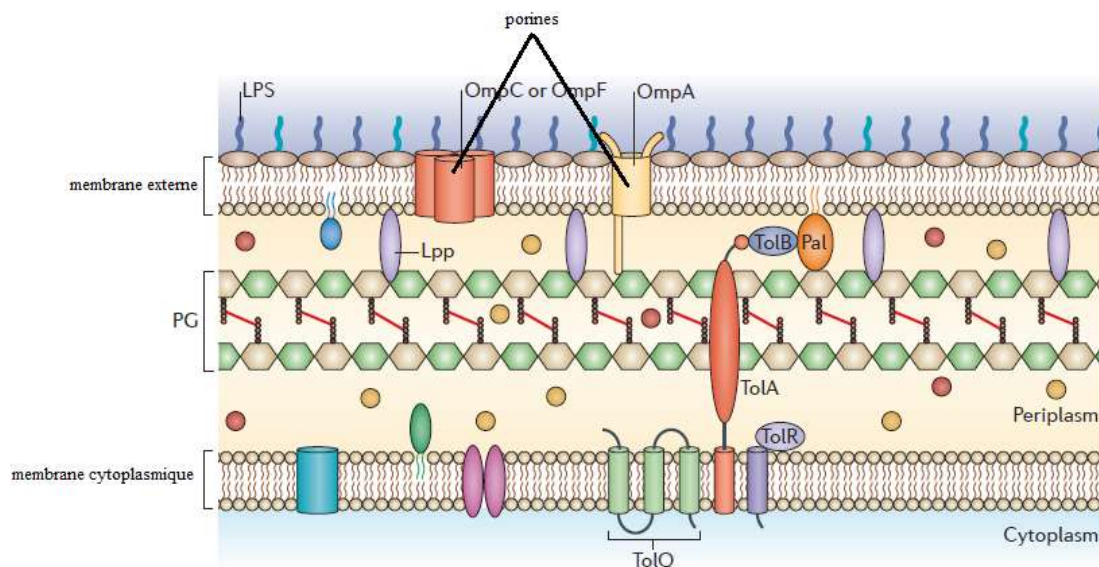


Figure 5 : Structure de la paroi des bacilles à Gram négatif (Schwechheimer et Kuehn, 2015).

Des données ont montré que, chez les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. et *Acinetobacter* spp., les réductions de l'expression des porines contribuent de manière significative à la résistance aux nouveaux médicaments tels que les carbapénèmes et les céphalosporines, auxquels la résistance est habituellement induite par des mécanismes de dégradation enzymatique (Blair *et al.*, 2015) (détaillé ci-dessous).

Bien que la membrane externe serve à ralentir la perméation des molécules, elle ne peut pas complètement obstruer l'influx et ne contribue donc pas à un niveau substantiel de résistance aux antibiotiques. Cependant, la présence d'un second contributeur, telle que la β -lactamase périplasmique de *P. aeruginosa* ou l'efflux actif, peut avoir des effets synergiques prononcés sur les niveaux de résistance intrinsèque, révélant une interaction entre la membrane externe et des mécanismes de résistance supplémentaires (Cox et Wright, 2013).

3.2.2.2- Les systèmes d'efflux

Les pompes à efflux sont des protéines de transport impliquées dans l'extrusion de substrats toxiques (incluant pratiquement toutes les classes d'antibiotiques cliniquement appropriés) de l'intérieur de cellules vers l'environnement externe. Elles peuvent être spécifiques à un substrat ou transporter une gamme de composés structurellement dissemblables (incluant des antibiotiques de plusieurs classes); de telles pompes peuvent être associées à une multirésistance aux antibiotiques (**Webber et Piddock, 2003**).

Certaines classes d'antibiotiques ne peuvent pas être utilisées pour traiter les infections causées par des bactéries à Gram négatif en raison de leur résistance intrinsèque relative. La base moléculaire de ce phénotype intrinsèque a été initialement accréditée auprès de l'imperméabilité de la membrane externe. Cependant, il a été découvert par la suite que la résistance intrinsèque de *P. aeruginosa* à différentes classes d'antibiotiques (tétracycline, chloramphénicol et norfloxacine) était due à la présence de pompes à efflux à codage chromosomique (**Cox et Wright, 2013**).

Chez les procaryotes, il existe cinq grandes familles de transporteurs d'efflux : MF (*major facilitator*), MATE (*multidrug et toxic efflux*), RND (*resistance-nodulation-division*), SMR (*small multidrug resistance*) et ABC (*ATP binding cassette*). Tous ces systèmes utilisent la force motrice des protons comme source d'énergie, à l'exception de la famille ABC, qui utilise l'hydrolyse de l'ATP pour stimuler l'exportation de substrats (**Webber et Piddock, 2003**).

La famille RND (Figure 6 et 18) est la famille des pompes la mieux caractérisée, elle se trouve chez les bactéries à Gram négatif. Lorsqu'elles sont surexprimées, elles confèrent des niveaux de multirésistance cliniquement pertinents et exportent une gamme extrêmement étendue de substrats (**Blair et al., 2015**).

D'autres transporteurs spécifiques ont été décrits, notamment pour les cyclines, macrolides, lincosamides et les streptogramines. Il existe environ une vingtaine de pompes MFS qui confèrent en général la résistance à la tétracycline mais pas à la minocycline, ni aux glycylicyclines. Les protéines TetA, TetB, TetC, TetD et TetE sont très largement distribuées chez les *Enterobacteriaceae*, les *Pseudomonadaceae* et les *Vibrionaceae*. Chez *E. coli*, un transporteur ABC, MacB, a été décrit dans la résistance aux macrolides à 14 et 15 atomes. Ce système d'efflux comprend aussi MacA, une MFP et probablement la porine TolC (**Cattoir, 2004**).

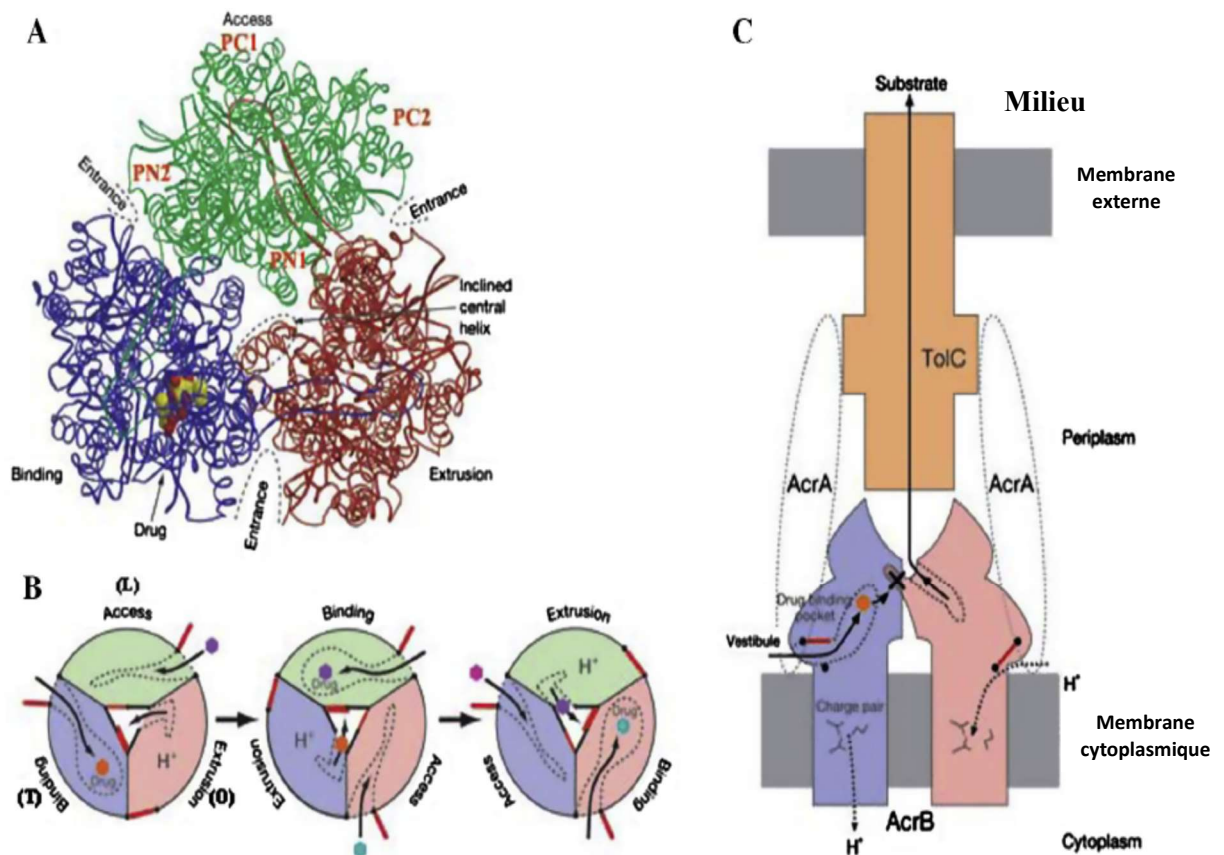


Figure 6 : Structure d'AcrB et mécanisme de rotation fonctionnelle de l'extrusion du médicament par le système d'efflux de RND AcrAB-TolC (Sun *et al.*, 2014).

Les trois protomères sont colorés en vert, bleu et rouge, respectivement. (A) Vue de dessus d'une représentation de ruban avec un médicament (jaune et rouge) dans le protomère de liaison. (B) Vue de dessus du côté distal de la cellule. Les drogues sont illustrées sous forme d'hexagones. Les lignes rouges représentent les sites d'entrée et de sortie de chaque protomère. La poche de liaison au médicament et la voie de translocation sont en lignes pointillées. (C) Vue latérale du système d'efflux AcrAB-TolC parallèle au plan de la membrane. Les drogues sont illustrées sous forme d'hexagones. Les lignes rouges représentent les sites d'entrée et de sortie de chaque protomère. La voie d'accès, de liaison et d'extrusion du substrat est indiquée.

3.2.2.3- Altération de la cible

La plupart des antibiotiques se lient spécifiquement à leurs cibles avec une haute affinité, empêchant ainsi l'activité normale de la cible (Blair *et al.*, 2015). La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, un mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques empêchent également les effets bactériostatiques / bactéricides de ces agents et favorise ainsi la résistance (Figure 07) (Muylaert et Mainil, 2012).

Le mécanisme de résistance aux macrolides est l'un des exemples les plus communs ; il implique la modification du site cible sur le ribosome, en particulier la méthylation d'un résidu d'adénine dans le domaine V de l'ARNr 23S. Cette dernière est réalisée par une famille de N-méthyltransférases codées par un plasmide ou par un transposon. Ce genre de mécanismes peut intervenir aussi dans la résistance aux β -lactamines en altérant le site cible (c'est-à-dire la protéine de liaison à la pénicilline) (Poole, 2002).

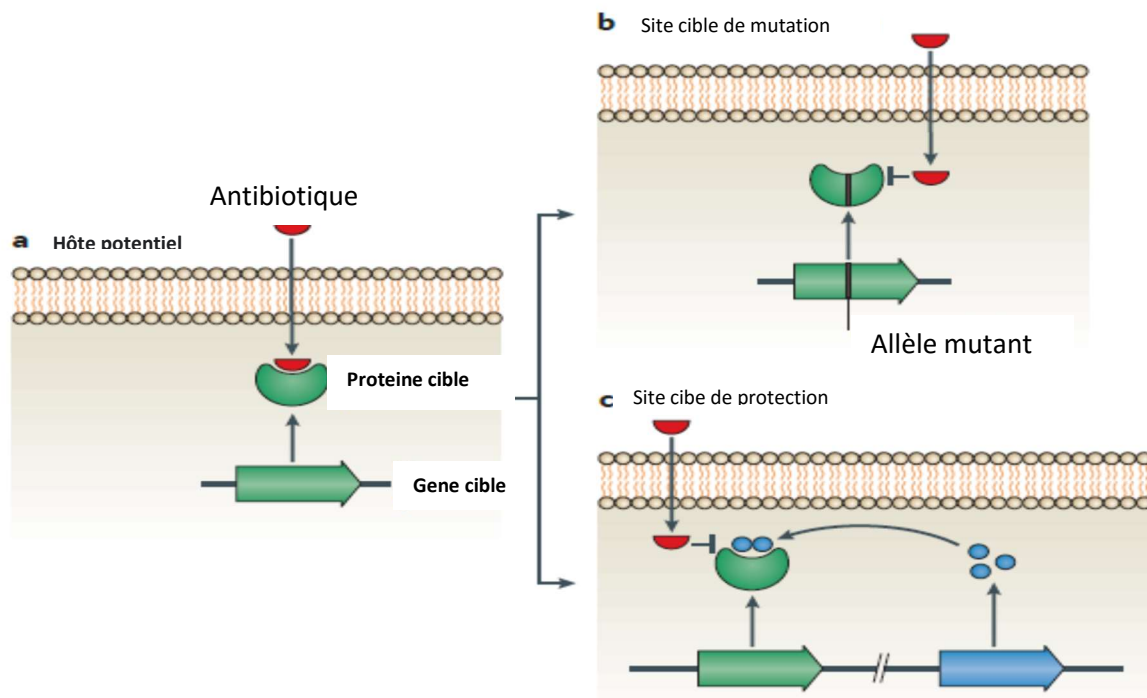


Figure 7 : Modification de la cible (Blair *et al.*, 2015)

Un hôte susceptible chez lequel un antibiotique est capable de se lier étroitement à sa cible spécifique et d'exercer un effet inhibiteur. b | Mutation du site cible (comme dans les mutations des gènes de la topoisomérase chez de nombreuses espèces conférant une résistance aux fluoroquinolones) ou recombinaison pour produire un allèle mosaïque (comme dans les protéines liant la pénicilline dans les pneumocoques et les gonocoques conférant le β -lactame résistance) aboutit à une cible fonctionnelle ayant une affinité réduite pour l'antibiotique, qui ne se lie pas efficacement et a donc un effet réduit ou négligeable. c | La modification de la cible par l'ajout d'un groupe chimique peut également empêcher la liaison aux antibiotiques sans modifier la séquence protéique primaire de la cible, qui conserve son activité.

3.2.2.4- Résistance enzymatique

Les bactéries ont la capacité d'adopter plusieurs stratégies d'inactivation enzymatique des antibiotiques suivant le type de molécules ciblées (Tableau 04).

3.2.2.4.1- Inactivation de l'antibiotique par hydrolyse

De nombreux antibiotiques possèdent des liaisons chimiques sensibles à l'hydrolyse (par exemple, des esters et des amides), dont l'intégrité est essentielle à l'activité biologique. Il n'est donc pas surprenant qu'il existe plusieurs exemples d'enzymes qui ont évolué pour cibler et

cliver ces liaisons vulnérables et, par conséquent, fournir un moyen de détruire l'activité des antibiotiques. Les principales sont des amidases qui coupent l'anneau β -lactame, des pénicillines et céphalosporines. D'autres exemples incluent également les estérases qui sont liées à la résistance aux macrolides et les époxydases qui confèrent une résistance à la fosfomycine par une réaction d'ouverture d'anneau. Étant donné que ces enzymes ne nécessitent que de l'eau en tant que co-substrat, elles peuvent souvent être excrétées par les bactéries, interceptant ainsi les antibiotiques avant d'entrer en contact avec les bactéries (Wright et Sutherland, 2007).

Le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines reste les β -lactamases, des enzymes qui inactivent l'antibiotique en hydrolysant le noyau β -lactame de la molécule. Quatre classes moléculaires de β -lactamases sont reconnues, dont les pénicillinases de classe A, les métallo- β -lactamases de classe B, les céphalosporinases de classe C et les oxacillinases de classe D. La résistance découle de l'expression naturelle ou mutationnelle de gènes chromosomiques ou de l'acquisition d'éléments génétiques extrachromosomiques (plasmides ou transposons) porteurs des gènes de résistance (Poole, 2002).

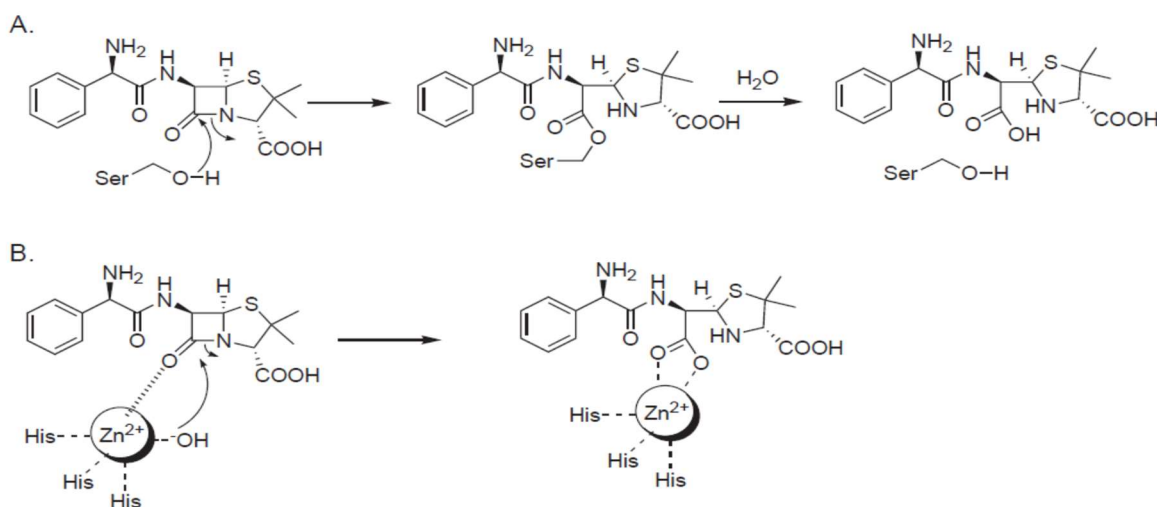


Figure 8 : Mécanisme général des Ser- β -lactamases et des métallo- β -lactamases (Wright et Sutherland, 2007). L'inactivation de l'amoxicilline par une Ser- β -lactamase (A) et une métallo- β -lactamase (B) en L'hydrolysant le noyau β -lactame

3.2.2.4.2 - Inactivation de l'antibiotique par transfert d'un groupe chimique

La famille des enzymes à l'origine de la résistance la plus diverse est celle des transférases. Ces enzymes modifient de manière covalente les antibiotiques, ce qui entraîne des modifications structurelles altérant la liaison à la cible. Les stratégies chimiques comprennent l'acylation et la N-acylation, la phosphorylation, la nucléotidylation, la ribosylation, la glycosylation et le transfert de thiol. Ces stratégies de modification covalente nécessitent toutes un co-substrat d'activité, notamment l'ATP, l'acétyl-CoA, le NAD⁺, le glucose UDP ou le glutathion. Par conséquent, ces enzymes ne sont actives que dans le cytosol (**Wright et Sutherland, 2007**).

Tableau 04 : Les stratégies enzymatique de l'inactivation des antibiotiques (**Wright et Sutherland, 2007**).

Stratégie	Type	Antibiotiques affectés
Hydrolyse		β-lactamines
		Macrolides
Transfert de groupe	Acyl	Aminoglycoside
	Phosphoryle	Chlorophenicol
		Streptogamine A
	Thiol	Aminoglycoside
		Macrolide
		Rifamycine Peptide Fosfomycine
	Nucleotidyle	Aminoglycoside
	ADP-ribosyle	Lincosamide
Rifamycine		
Glycosyle	Macrolide	
	Rifamycine	
Autres	Oxydo-réduction	Tetracycline
		Rifamycine Streptogamine A
	Lyase	Streptogamine B

Les aminoglycosides sont particulièrement susceptibles d'être modifiés car elles sont de grosses molécules comportant de nombreux groupes hydroxyle et amide exposés. Les enzymes modifiant les aminosides confèrent des niveaux élevés de résistance à l'antibiotique (ou aux antibiotiques) qu'elles modifient. Il existe trois grandes classes d'enzymes modifiant les aminosides : les acétyltransférases (Figure 09), les phosphotransférases et les nucléotidyltransférases. Ces classes sont évolutives et varient selon les aminosides qu'elles peuvent modifier et dans la partie de la molécule modifiée (**Blair et al., 2015**).

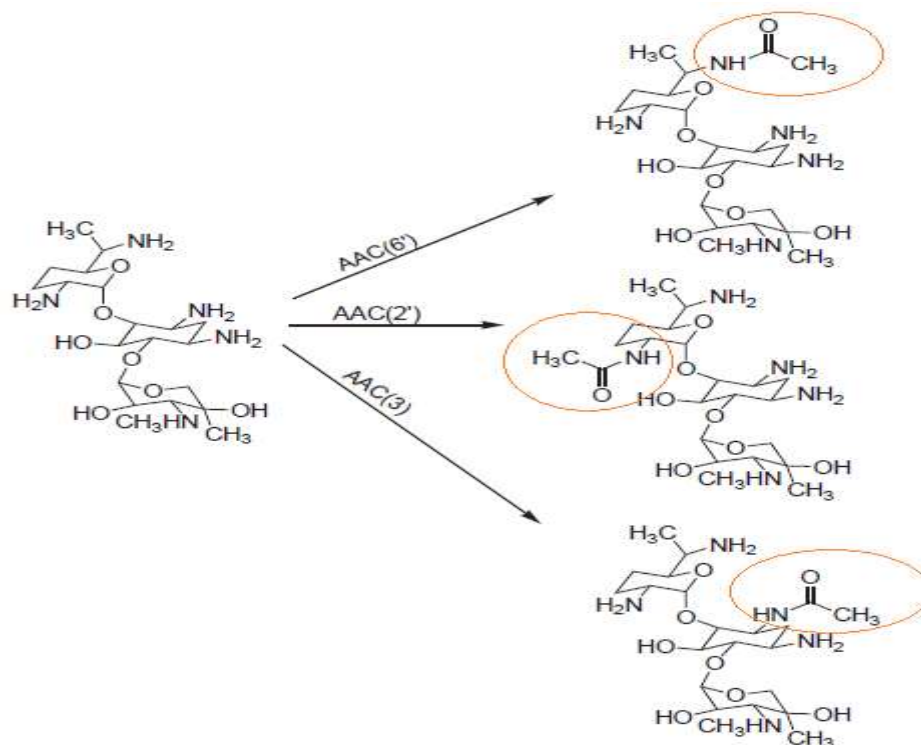


Figure 9 : Catalyse d'un aminoglycoside par les aminoglycosides acetyltransferases (AAC) (**Wright et Sutherland, 2007**).

La perturbation des groupes hydroxyle et amine clés des antibiotiques aminoglycosides bloque donc l'interaction avec l'ARNr, ce qui entraîne la résistance

3.2.2.4.3- Biofilm et résistance aux antimicrobiens

Dans la plupart des environnements naturels, le mode de vie microbien prédominant est associé à une surface dans une structure appelée biofilm. L'association aux surfaces est un moyen efficace de rester dans un microenvironnement favorable plutôt que d'être balayé par le courant. la phase microbienne planctonique peut être considérée comme un mécanisme de translocation d'une surface à une autre (**Watnick et Kolter, 2000**).

Diverses raisons de l'augmentation de la résistance aux antimicrobiens des microorganismes dans les biofilms ont été postulées et étudiées. Les bactéries présentes dans

les biofilms (Figure 10) sont entourées d'une matrice extracellulaire susceptible de limiter physiquement la diffusion d'agents antimicrobiens. L'appauvrissement en éléments nutritifs et / ou en oxygène et / ou l'accumulation de déchets dans le biofilm peuvent amener certaines bactéries à entrer dans un état stationnaire dans lequel elles sont moins susceptibles à la destruction par les antimicrobiens actifs sur la phase de la croissance. Enfin, les microorganismes présents dans les biofilms pourraient exprimer des gènes de résistance aux antimicrobiens spécifiques au biofilm qui ne sont pas nécessaires à la formation de biofilm. (Patel, 2005).

Il est devenu évident que les cellules développées en biofilm expriment des propriétés distinctes des cellules planctoniques, dont l'une est la résistance accrue aux agents antimicrobiens, des recherches ont commencé à expliquer comment et pourquoi les communautés microbiennes attachées à la surface développent une résistance aux agents antimicrobiens (Mah et Toole, 2001).

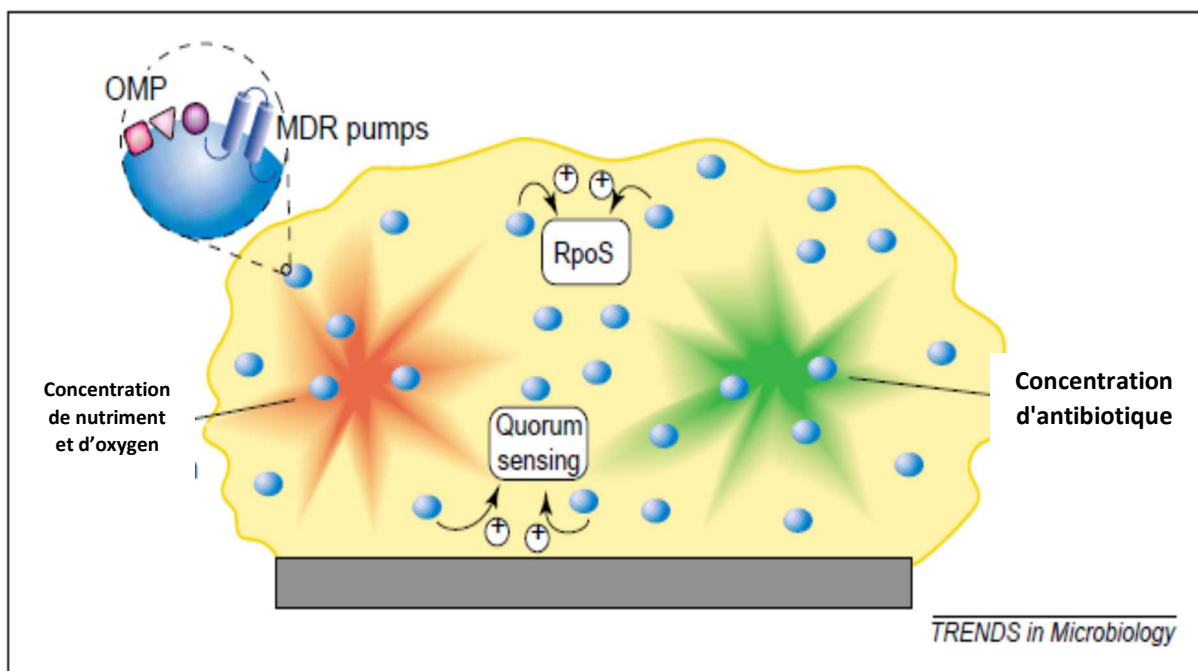


Figure 10 : Résistance aux antimicrobiens dans les biofilms (Mah et Toole, 2001).

Schéma des mécanismes pouvant contribuer à la résistance des bactéries (en forme sessile) aux agents antimicrobiens. Le polysaccharide extracellulaire est représenté en jaune et la bactérie en ovale bleu. Les biofilms sont marqués par leur hétérogénéité et cette hétérogénéité peut inclure des gradients d'éléments nutritifs, de déchets et d'oxygène (illustrés par des étoiles colorées). Les mécanismes de résistance dans le biofilm incluent une densité cellulaire accrue et une exclusion physique de l'antibiotique. Les bactéries individuelles dans un biofilm peuvent également subir des modifications physiologiques qui améliorent la résistance aux biocides. Divers auteurs ont émis l'hypothèse que les modifications suivantes peuvent se produire chez les bactéries développées dans le biofilm : (1) l'induction de la réponse générale au stress (processus dépendant de la protéine *rpoS* chez les bactéries à Gram négatif); (2) l'expression croissante des pompes à résistance multiple aux médicaments (MDR); (3) activer les systèmes de *quorum sensing*; et (4) les profils changeants des protéines de la membrane externe (OMP).

3.2.2.4.3.1- Pénétration retardée de l'antimicrobien

Pour que les nutriments et les molécules antimicrobiennes atteignent les cellules microbiennes dans un biofilm, elles doivent diffuser à travers la matrice de biofilm produite par les microorganismes et les recouvrant. Cette limitation de diffusion peut être le résultat d'une limitation de transport (incapacité des molécules antimicrobiennes à diffuser à travers la matrice polymère) ou d'une inactivation de la molécule antimicrobienne par le matériau de la matrice. Un certain nombre d'études ont rapportés que la résistance aux antimicrobiens des organismes dans les biofilms est due à un retard dans le processus de pénétration. **(Donlan , 2000).**

C'est le cas de la pénétration de la ciprofloxacine dans les biofilms de *P. aeruginosa*, où il a été démontré que le biofilm entravait considérablement la pénétration de cet antibiotique **(Donlan , 2000).**

3.2.2.4.3.2 - Altération du taux de croissance cellulaire

Un autre mécanisme proposé pour la résistance des cellules associées au biofilm (organismes sessiles) aux antimicrobiens est que le taux de croissance de ces organismes est nettement plus lent que la croissance des cellules planctoniques ; par conséquent, l'absorption des molécules antimicrobiennes est diminuée **(Donlan , 2000).**

3.2.2.4.3.3- Autres mécanismes

La résistance des biofilms aux agents antimicrobiens commence à la phase de fixation et augmente à mesure que le biofilm vieillit. Dans une étude sur les biofilms de *S. epidermidis*, par exemple, la vancomycine a montré une diminution de la mortalité lorsque le biofilm vieillissait de 6 heures à 2 jours **(Patel, 2005).**

4- Les biocides

Conformément à la directive 98/8 / CE du Parlement européen et du Conseil du 16 Février 1998, concernant la mise sur le marché des produits biocides ; les produits biocides sont définis comme des substances et des préparations contenant une ou plusieurs substances actives, présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur. Ils sont destinés à détruire, rendre inoffensifs, prévenir l'action, ou autrement exercer un effet de contrôle sur tout organisme nuisible par des moyens chimiques ou biologiques (**Parlement européen, 1998**).

Contrairement aux antibiotiques, qui interagissent très spécifiquement avec certaines structures ou processus métaboliques de la cellule microbienne, tels que les ribosomes bactériens, des enzymes bactériennes spécifiques ou sur la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, le mode d'action des biocides est plutôt non spécifique ou multifactoriel. Ils désorganisent ou perforent les membranes biologiques [p. Ex. alcools, composés d'ammonium quaternaire (CAQ), amines], ou réagissent de manière non spécifique avec des groupes fonctionnels de protéines (par exemple, aldéhydes, composés peroxygénés), ou avec le matériel génétique (par exemple, des halogènes, des aldéhydes) (**Meyer et Cookson, 2010**).

4.1- Les biocides en milieu hospitalier

Les biocides sont largement utilisés dans les établissements de soins de santé pour différentes applications : la stérilisation des dispositifs médicaux; la désinfection des surfaces et de l'eau; comme antiseptiques cutanés; et pour la préservation de diverses formulations (**Maillard, 2005**). Ils jouent en particulier, un rôle essentiel dans le contrôle des infections et aident à prévenir la transmission d'organismes infectieux. Si ils sont utilisés correctement, les biocides peuvent également influencer sur le taux d'infections acquises en milieu hospitalier et peuvent réduire le besoin d'une antibiothérapie (**Murtough et al., 2001**).

4.2- Classification des biocides

Les biocides peuvent être classés en fonction de plusieurs paramètres, dont la structure chimique et le domaine d'application (cliniques et non cliniques) (**Barah, 2013**).

Selon la structure chimique les principaux groupes de biocide sont :

4.2.1-Les ammoniums quaternaires

Les ammoniums quaternaires ont une structure générale de $N^+R^1R^2R^3R^4$ (Figure 11). Ils contiennent généralement une «tête» d'azote chargée positivement et comportant quatre liaisons. (**Buffet-Bataillon et al., 2012; Hegstad et al., 2010**).

R représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle simple ou un groupe alkyle substitué par d'autres groupes fonctionnels, et X représente un anion (**Buffet-Bataillon et al., 2012; Hegstad et al., 2010**).

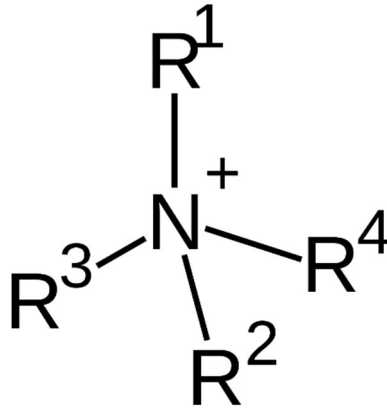


Figure 11 : Structure générale des ammoniums quaternaires (**Knetsch et Koole, 2011**).

Les interactions électrostatiques entre la tête QAC (chargée positivement) et la membrane cellulaire bactérienne (chargée négativement), spécifiquement les phospholipides membranaires, sont suivies par la perméation des chaînes latérales QAC dans la région intramembranaire, ce qui finit par entraîner une fuite progressive de matériel cytoplasmique, dont les ions potassium, le phosphate inorganique, les acides aminés, les nucléotides, et les protéines, initiant une autolyse cellulaire (Figure 12) (**Denyer, 1995; Jennings, Minbiole et Wuest, 2016**).

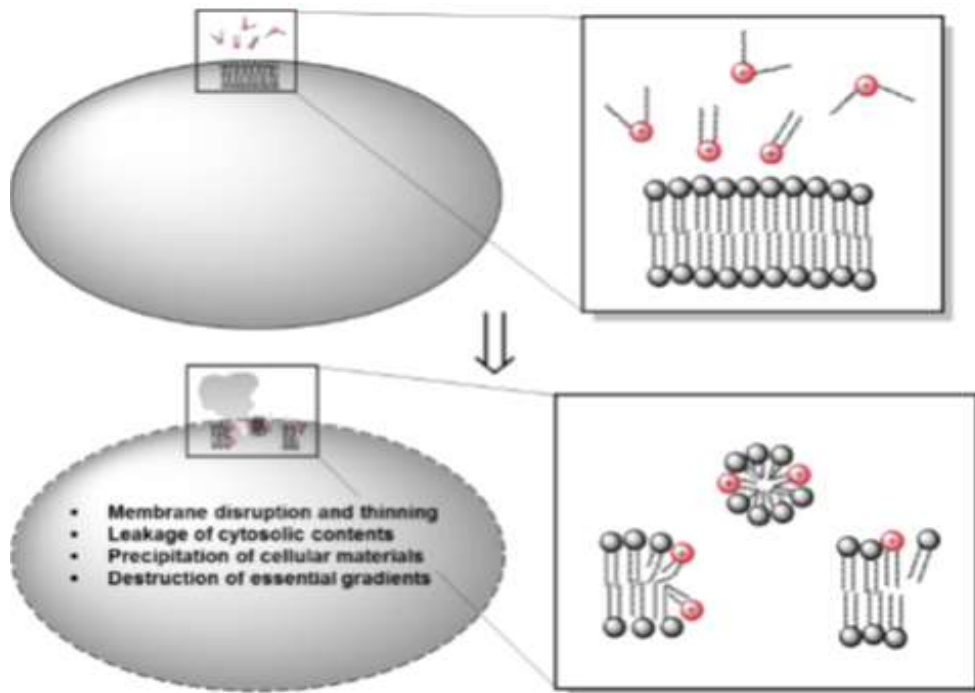


Figure12. Mécanisme d'action des ammoniums quaternaires (Jennings, Minbiole, et Wuest, 2016).

Ces molécules présentent une activité nettement accrue contre les bactéries à Gram positif. Alors que les bactéries à Gram positif possèdent une seule membrane cellulaire phospholipidique et une paroi cellulaire plus épaisse composée de peptidoglycane, les bactéries à Gram négatif sont encapsulées par deux membranes cellulaires et une couche assez mince de peptidoglycane. C'est en raison de la présence de cette seconde membrane que les QAC ont tendance à présenter une activité réduite sur les Gram négatives (Jennings, Minbiole, et Wuest, 2016).

4.2.2-Biguanides

Cette famille est composée de molécules qui dérivent de la guanidine. Il s'agit de composés dans lesquels le groupement amidine est directement lié au groupement guanidine en position N2 pour former $-C = N - C = N-$ système conjugué (Figure 13) (Kathuria, Bankar, et Bharatam, 2018)

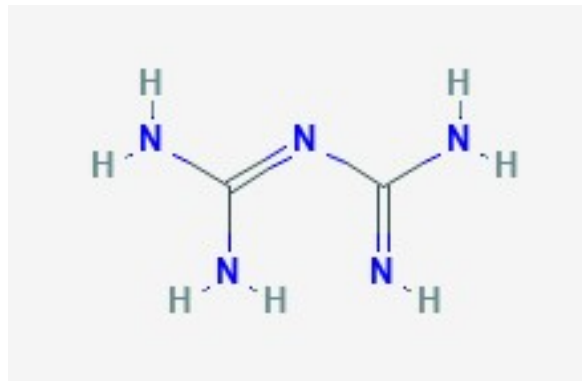


Figure 13. Structure générale des biguanides (Kathuria, Bankar, et Bharatam, 2018)

Les biguanides ont un mode d'action similaire à celui des ammoniums quaternaire (Denyer, 1995; Denyera et Stewartb, 1998). Ils provoquent initialement une fuite importante des composants intracellulaires, mais à des concentrations plus élevées, ils provoquent la coagulation du cytosol. Il a été démontré que certains composés, comme la biguanide polyhexaméthylène (PHMB), interagissent avec les phospholipides membranaires et altère l'intégrité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Maillard, 2002).

La chlorhexidine (CHX) est l'un des biguanides dont le mode d'action est particulièrement bien documenté (Maillard, 2002). Cette molécule cationique attirée rapidement sur la surface cellulaire bactérienne chargée négativement, a une adsorption spécifique et forte avec les composés contenant du phosphate (Jones, 2000).

Cela altère l'intégrité de la membrane cellulaire bactérienne et attire la chlorhexidine vers la membrane cellulaire interne.

La chlorhexidine se lie aux phospholipides dans la membrane interne, entraînant une augmentation de la perméabilité de la membrane interne et des fuites de composants de faible poids moléculaire, tels que les ions potassium (Jones., 2000) (Figure14). À des concentrations plus élevées, la CHX est bactéricide et provoque la précipitation et la coagulation du cytoplasme (Maillard 2002; Hubbard, Coates, et Harvey 2017).

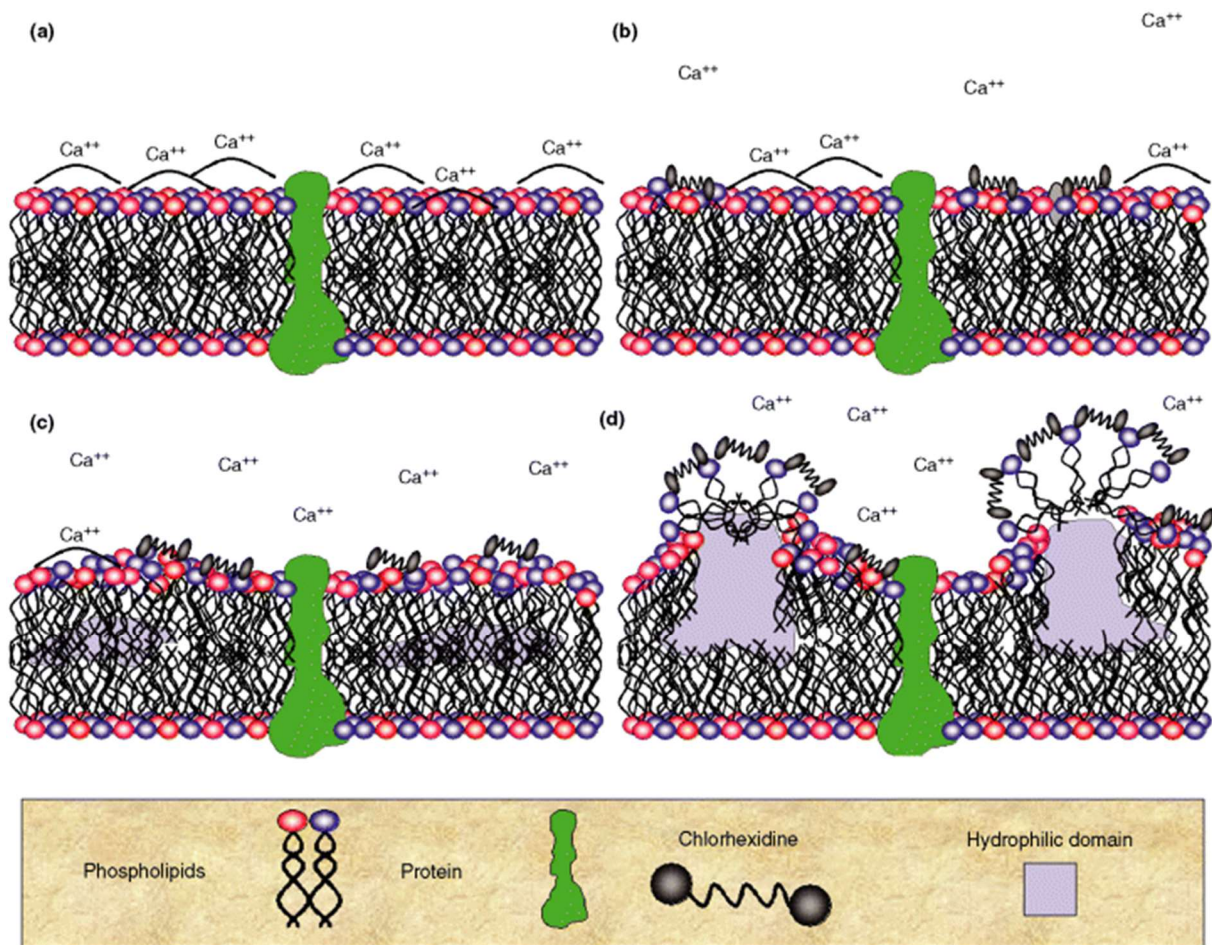


Figure 14 : Mode d'action de la CHX (Gilbert et Moore, 2005).

Représentation schématique de l'interaction de la chlorhexidine avec la membrane cytoplasmique bactérienne. Le diagramme montre une diminution progressive de la fluidité de la membrane externe avec une exposition croissante au bisbiguanide

4.2.3- Aldéhydes

Un aldéhyde est un composé chimique organique dont la structure générale est notée R-CHO, où «R» représente diverses structures à base de carbone (Aldehydes 1961).

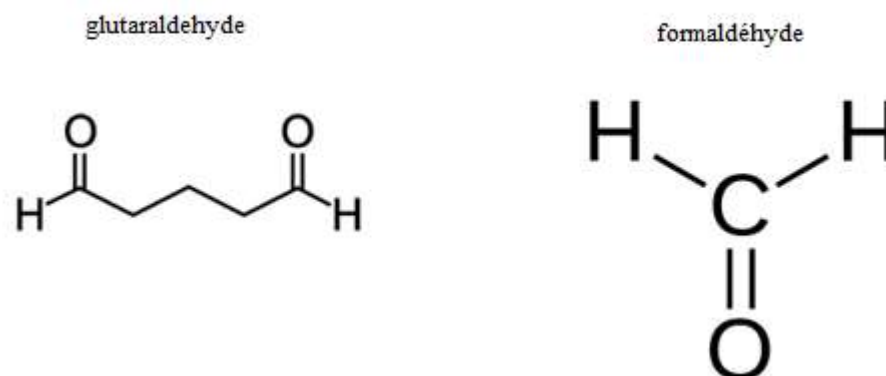


Figure 15 : Structure du glutaraldéhyde (Svetlikova *et al.*, 2009) et formaldéhyde (Donnell, 1999)

Divers aldéhydes sont utilisés comme biocides, notamment des mono- et des di-aldéhydes tels que le formaldéhyde, le glutaraldéhyde (Barah, 2013).

Le glutaraldéhyde (Figure 15) est largement utilisé comme désinfectant à basse température et stérilisant des endoscopes et des équipements chirurgicaux. Il est principalement, réactif en surface et forme des ponts ou des liaisons croisées avec des groupes amino de protéines exposées à la surface de cellules bactériennes (Svetlikova *et al.*, 2009). Son mécanisme d'action implique une association étroite avec les couches externes des cellules bactériennes, en particulier des amines non protonées à la surface des cellules, un tel effet pourrait expliquer son action inhibitrice sur le transport et sur les systèmes enzymatiques, où l'accès du substrat à l'enzyme est interdit est interrompu. Un effet supplémentaire sur la membrane interne a été suggéré, il implique l'élimination partielle ou totale de la paroi cellulaire en milieu hypertonique, conduisant à la production de sphéroplastes ou de protoplastes conduisant la lyse par le glutaraldéhyde lorsque ces formes sont diluées dans un environnement hypotonique, une conclusion corroborée par le fait qu'il a été rapporté que les dialdéhydes empêchent la libération sélective de certaines enzymes de *Micrococcus lysodeikticus* liées aux membranes (Mcdonnell et Denver, 1999).

Le formaldéhyde est un produit chimique extrêmement réactif qui interagit avec les protéines, l'ADN et l'ARN *in vitro* (Mcdonnell et Denver, 1999; Barah, 2013). Il est considéré comme sporicide en raison de sa capacité à pénétrer à l'intérieur des spores bactériennes. (Mcdonnell et Denver, 1999).

L'interaction avec la protéine résulte d'une combinaison avec l'amide primaire ainsi qu'avec les groupes amino, bien que les groupes phénol se lient peu au formaldéhyde. Il a été proposé que le formaldéhyde agisse en tant qu'agent mutagène et en tant qu'agent d'alkylation par réaction avec des groupes carboxyle, sulfhydryle et hydroxyle. Le formaldéhyde réagit également de manière importante avec l'acide nucléique, il forme des liaisons croisées protéine-ADN, inhibant ainsi la synthèse de l'ADN. Les faibles concentrations de formaldéhyde sont sporostatiques et inhibent la germination (**Mcdonnell et Denver, 1999**).

4.2.4- Alcools

Les alcools agissent en inhibant la synthèse de l'ADN et l'ARN, ainsi que la paroi cellulaire (**Henshaw et O'Carroll, 2009**). Leur mode d'action spécifique, demeure relativement obscure, mais compte tenu de leur efficacité accrue en présence d'eau, il est probable qu'ils provoquent des dommages à la membrane et une dénaturation rapide des protéines, avec une perturbation subséquente du métabolisme et de la lyse cellulaire. Cela est corroboré par des informations spécifiques faisant état de dénaturation de déshydrogénases chez *Escherichia coli* et d'une phase de latence accrue chez *Enterobacter aerogenes*, supposée être due à l'inhibition du métabolisme nécessaire à la division cellulaire (**Mcdonnell et Denver, 1999**).

Les exemples les plus connus de cette famille sont l'éthanol et l'isopropanol (figure 16) qui sont des perturbateurs de la membrane cellulaire. L'éthanol provoque la libération rapide de composants intracellulaires et désorganise les membranes, probablement du fait de la pénétration du solvant dans la partie hydrocarbonée de la bicouche phospholipidique. Il présente aussi d'autres effets chez *E. coli* tels que l'inhibition de la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des peptidoglycanes. (**Maillard, 2002**). En plus de l'inhibition d'enzymes impliquées dans la glycolyse, la synthèse d'acides gras et de phospholipides et l'absorption de soluté qui pourraient résulter directement d'une rupture induite par l'éthanol sur la structure membranaire (**Maillard, 2002**).

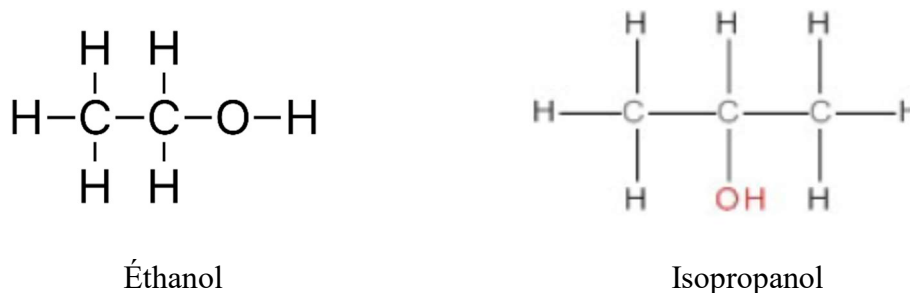


Figure 16 : Structure chimique de l'éthanol ;l'isopropanol (Jamaludin et Ramli, 2014; Mordensky et al., 2016).

4.2.5- Phénols

Les agents antimicrobiens de type phénolique ont longtemps été utilisés pour leurs propriétés antiseptiques, désinfectantes ou conservatrices, en fonction du composé. Il a été rapporté que, bien qu'ils soient souvent qualifiés de "poisons protoplasmiques généraux", ils possèdent des propriétés d'activité membranaire qui contribuent également à leur activité globale (Mcdonnell et al., 1999). Ils agissent en dénaturant les protéines de la membrane cytoplasmique (Mounier et al., 2009), induisant ainsi la fuite de matériaux intracellulaires à partir des bactéries (Maillard, 2002), y compris la libération du K^+ , le premier indice de la dégradation de la membrane (Mcdonnell et al., 1999). A de faibles concentrations, ils peuvent inhiber la synthèse enzymatique (Mounier et al., 2009).

Le triclosan (Figure 17) est un des bisphénols les plus utilisés, à un large spectre d'activités qui englobe de nombreux types de bactéries non-sporulantes à Gram positif et à Gram négatif. Des auteurs ont suggéré que la membrane cytoplasmique bactérienne était la cible principale de l'action du triclosan. Cependant, il a été démontré par la suite, que les activités inhibitrices de la croissance résultaient du blocage de la synthèse des lipides en inhibant spécifiquement une protéine réductase énoyl-acyl-transporteur dépendante du NADH (Russell, 2004), en interagissant avec les résidus d'acides aminés du site actif de l'enzyme (Heath et al., 1999 ; Schweizer, 2001).

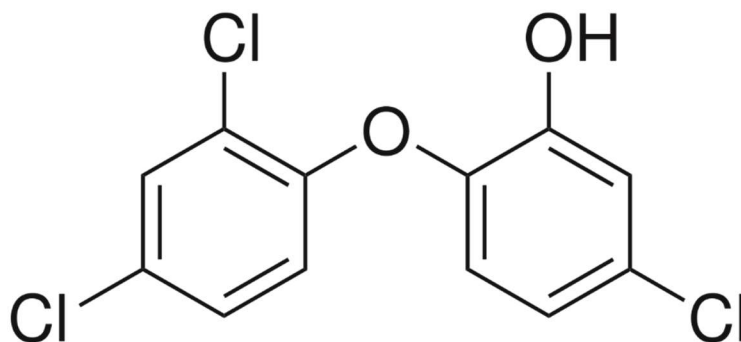


Figure 17 : Structure du Triclosan (Schweizer, 2001).

Des hypothèses suggèrent que le triclosan provoque la lyse cellulaire en raison de multiples facteurs, notamment l'inhibition la synthèse des lipides, de l'ARN et des protéines et des perturbations de la membrane (Schweizer, 2001).

4.2.6-Peroxygènes

Le peroxyde d'hydrogène et l'acide peracétique sont les composés les plus utilisés dans ce groupe. Ils sont considérés comme des désinfectants de haut niveau en raison de la production de radicaux hydroxyles hautement réactifs. L'avantage de ce groupe par rapport aux autres groupes microbicides est que leurs produits de décomposition sont non toxiques et biodégradables (Fraise et al., 2012).

Les peroxygènes réagissent avec les macromolécules essentielles à la vie microbienne, y compris l'oxydation de diverses protéines, glucides, lipides et acides nucléiques. Ces réactions entraîneront la perte de la structure et, par conséquent, la fonction de ces molécules, notamment le dépliage, la fragmentation et la réaction croisée avec des groupes oxydés (McDonnell, 2007).

Les protéines, les glucides et les lipides à la surface des micro-organismes sont les cibles accessibles initiales. Les différentes structures sur ces surfaces sont essentielles à la survie, à la pathogénicité et à la structure de base des microorganismes. Par conséquent, la perte de structure et de fonction à ce stade est elle seule suffisante pour observer la perte de viabilité. Les dommages initiaux aux structures de surface sont suivis par d'autres interactions avec divers composants intercellulaires, y compris des protéines et des acides nucléiques, lors de la décomposition de la structure du microorganisme. Les effets spécifiques de différentes substances chimiques peroxygénées ont été signalés comme étant particulièrement ciblés par ces biocides. Par exemple, les effets du dioxyde de chlore sur certains acides aminés (tryptophane, cystéine et tyrosine) ont été rapportés. (McDonnell, 2007).

En outre, il a été démontré que l'acide peracétique et le peroxyde d'hydrogène rompaient les groupes sulfhydryle (-SH) et les liaisons soufre (S-S) dans les protéines et les doubles liaisons d'acides gras ; Cependant, on s'attend à ce que ces groupes / liaisons soient particulièrement sensibles à l'oxydation (McDonnell, 2007).

4.3- Tolérance bactérienne aux biocides

La définition de «la résistance» appliquée aux biocides varie beaucoup dans la littérature de celle des antibiotiques (décrite dans la section 3.2). Appliqué aux antibiotiques, le terme décrit un niveau de sensibilité qui rend un agent inefficace aux concentrations pouvant être atteintes *in vivo*, mais les exemples cités de résistance aux biocides ne sont généralement pas corrélés à une défaillance du produit aux concentrations en cours d'utilisation (Lear et al., 2002).

Comme pour les antibiotiques, le mot « résistance » a été largement utilisé également pour les biocides. Cependant, étant donné que la résistance aux antibiotiques est mesurée en termes de concentrations inhibitrices de la croissance (bactéricides ou non) et que les biocides sont destinés à réduire les populations bactériennes viables (bien qu'elles puissent également avoir une activité inhibitrice de la croissance), il est préférable d'utiliser le mot tolérance pour les produits biocides et désinfectants (Cerf et al., 2010; Ortega Morente et al., 2013a).

L'insensibilité bactérienne aux biocides a été décrite dans les années 1950 et 1960 et semble en augmentation. La réponse bactérienne aux biocides est essentiellement déterminée par la nature de l'agent chimique et le type d'organisme impliqué. D'autres facteurs, tels que la température de contact, le pH environnemental et la présence de matières organiques peuvent avoir un effet considérable sur l'activité de l'agent antibactérien (Ortega Morente et al., 2013b).

4.3.1- Mécanismes de tolérances aux biocides

Les mécanismes de résistance ou de tolérance bactérienne aux biocides ont été définis comme intrinsèques et acquis par plusieurs auteurs dont (Russell, 1995; Murtough et al., 2001; Maillard, 2007; Ortega Morente et al., 2013a).

4.3.1.1 -Mécanismes intrinsèques

Il s'agit d'une capacité naturelle, contrôlée par les chromosomes, à résister à l'activité biocide. Les enveloppes et le cortex des spores, ainsi que, la teneur élevée en acide mycolique et en arabinogalactane de la paroi cellulaire mycobactérienne, constituent des barrières extrêmement imperméables à travers lesquelles les biocides doivent diffuser pour être efficaces (**Murtough et al., 2001**).

Les bactéries à Gram négatif sont généralement plus résistantes à l'action biocide que les bactéries à Gram positif. Ceci est principalement attribué à la membrane externe, ce qui nuit à l'absorption de biocides, bien que l'efflux soit considéré comme un mécanisme de plus en plus important (**Murtough et al., 2001**). La membrane externe des membres de la famille des *Enterobacteriaceae* (et d'autres bactéries à Gram négatif, en particulier *P. aeruginosa*) agit comme une barrière limitant et empêchant l'entrée de nombreux types d'agents antibactériens (**Ortega Morente et al., 2013b**).

P. aeruginosa tolère des niveaux élevés de CAQ et il est également moins sensible que beaucoup d'autres types de bactéries à Gram négatif au diacétate de chlorhexidine. La membrane externe est responsable de la résistance intrinsèque élevée de ce microorganisme à de nombreux biocides. Les membres du genre *Proteus* isolés à partir de sources cliniques sont toujours insensibles à la chlorhexidine (certaines souches sont hautement tolérantes à la chlorhexidine, aux CAQ, à l'EDTA et aux diamidines). La présence d'un type moins acide de LPS de membrane externe pourrait être un facteur contributif à cette résistance intrinsèque. Aucune action concertée n'a été menée pour examiner le rôle du peptidoglycane dans la tolérance des bactéries à Gram négatif aux biocides, il est connu depuis longtemps que les sphéropastes induits par la pénicilline sont rapidement lysés par des agents actifs sur les membranes tels que la chlorhexidine (**Morente et al., 2013b**). De plus, la résistance intrinsèque est souvent associée à l'activité des niveaux basaux d'efflux par les pompes éliminant activement les CAQ de la membrane. Ces pompes à efflux agissent soit seules, soit accompagnée d'une expression diminuée des porines. De plus, des pompes à efflux chromosomiques peuvent être induites de sorte qu'une souche apparemment sensible puisse surproduire une pompe pour devenir résistante (**Hegstad et al., 2010**).

Certaines bactéries peuvent dégrader les biocides, par exemple, la chlorhexidine et les CAQ. Comme il ne semble pas y avoir d'implication de plasmide, ce cas représente un autre exemple de l'insensibilité intrinsèque (**Russell, 2001**).

Le biofilm bactérien constitue une forme d'adaptation physiologique aux antimicrobiens, cette réponse est multifactorielle et peut se traduire, par exemple, par la réduction de la diffusion des biocides ou encore par les interactions entre les composés de la matrice extracellulaire et les biocides qui peuvent agir en limitant ou inactivant leur pouvoir antimicrobien (**Bridier *et al.*, 2011**). L'état cellulaire persistant est la dernière explication de l'augmentation de la résistance au sein d'un biofilm (**Simões *et al.*, 2011**).

4.3.1.2 -Mécanismes acquis

Le terme «résistance acquise» est utilisé si certaines souches d'une espèce microbienne diffèrent considérablement dans leur sensibilité aux biocides par rapport à la moyenne de cette espèce (**Meyer et Cookson, 2010**). Elle peut être acquise par mutation ou par l'obtention d'éléments génétiques transférables (plasmides et transposons) (**Murtough *et al.*, 2001**).

4.3.1.2 .1- Imperméabilité

Il existe une pléthore de données qui suggèrent que des modifications de la perméabilité sont responsables de la tolérance acquise au biocide chez les bactéries à Gram négatif. (**Mcdonnell et Denver, 1999; Morente *et al.*, 2013b**).

Notamment des modifications de l'hydrophobicité de surface, de l'ultrastructure de la membrane externe, la composition protéique extra-membranaire, et la modification de la composition en acides gras de la membrane externe. Par exemple, la répression de la biosynthèse des principales porines, peut entraîner une faible résistance non spécifique aux antibiotiques et une tolérance aux biocides (**Ortega Morente *et al.*, 2013b**).

D'autres mécanismes peuvent être adoptés par les bactéries dont des modifications subtiles au niveau de la membrane cytoplasmique, ce qui peut réduire l'introduction de biocides dans, ou à travers, cet organite. À cet égard, l'effet des solvants organiques sur les acides gras réduit la fluidité membranaire ; de même, les solvants et le phénol peuvent induire des augmentations de la teneur en protéines membranaires, rigidifiant la structure membranaire (**Denyer et Maillard, 2002**).

4.3.1.2.2- Efflux

Les pompes à efflux qui participent à la tolérance aux biocides sont l'un des mécanismes les plus étudiés (Figure 18). De nos jours, un grand nombre de protéines intra-membranaires et associées à la membrane sont décrites comme impliquées dans l'extrusion d'antibiotiques, de biocides et d'autres substances hors de la cellule microbienne. Les pompes à efflux existent dans diverses structures. Une seule protéine peut agir seule pour effectuer l'efflux. Certains de ces systèmes protéiques simples utilisent l'ATP comme source d'énergie, d'autres formés d'un seul polypeptide utilisent la force motrice du proton pour stimuler le transport de l'antimicrobien (Levy, 2002).

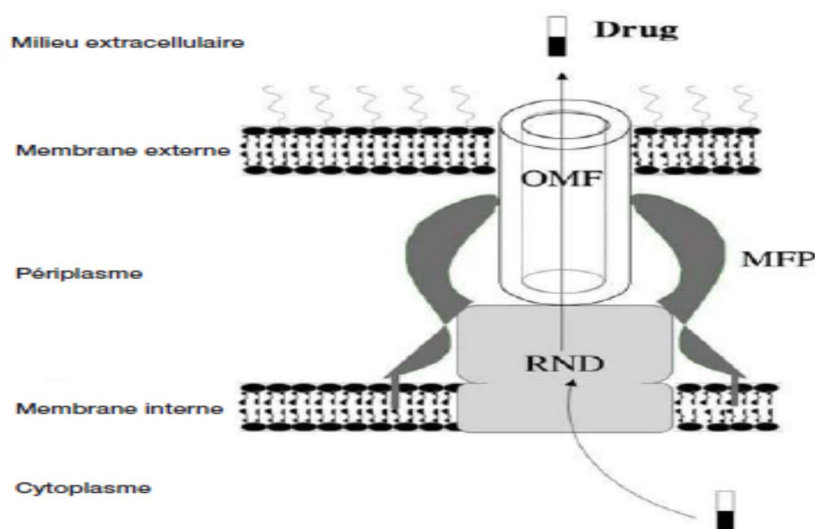


Figure 18. Représentation schématique d'une pompe à efflux (Pags et al., 2011).

Plusieurs classes principales de systèmes d'efflux (détaillées précédemment) ont été identifiées comme des mécanismes qui contribuent à réduire l'efficacité de nombreux biocides (Davin-regli et al., 2012). Les gènes de la résistance aux ammoniums quaternaires *qac* qui codent pour des pompes dépendantes de la force motrice du proton, dont les gènes *qacE*, *qacJ*, *qacA/B* (Fernández Márquez et al., 2017) et *qacF* (Ploy et al., 1998) ont été détectés chez des bactéries à Gram négatif. La plupart de ces gènes sont codés par des plasmides, parmi ces molécules, *qacEΔ1* semble être largement disséminé chez (*Pseudomonas* sp., *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium, *S. marcescens*, *Vibrio* spp., *Enterobacter*, *Stobroboreanthoder*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas* spp., *Morganella morganii*, *P. stuartii*, et *Proteus vulgaris*). (Morente et al., 2013a).

L'exportateur multidrogués *EmrE* de la famille SMR héberge également des gènes *qac*, un autre mécanisme de tolérance aux biocides est lié à l'exportateur *CepA* chromosomique, qui confère une protection contre la chlorhexidine chez *K. pneumoniae* (Morente et al., 2013a).

4.3.1.2.3- Biodégradation des biocides

La dégradation enzymatique des biocides a été rapporté comme étant un mécanisme de résistance bactérienne aux biocides chez plusieurs espèces de bacilles à Gram négatif, dont l'hydrolase et la réductase chez *E. coli*, l'aldéhyde déshydrogénase chez *E. coli* et *P. aeruginosa* la catalases, la superoxyde dismutase et l'alkyl hydroxypéroxydases chez *E. coli* (Maillard, 2005). Il est a noter que la biodégradation du triclosan a été signalée chez *Pseudomonas* sp. (Veetil et al., 2012). Par ailleurs, une dégradation de la chlorhexidine a été rapportée chez *S. marcescens*, *P. aeruginosa* et *Achromobacter* (Mcdonnell et al., 1999).

4.3.1.2.4- Modification et altération des cibles

L'altération des sites cibles n'est pas souvent caractéristique d'une résistance aux biocides et ne semble pas être un mécanisme général chez les bactéries (Davin-Regli et al., 2012). Une exception a été décrite ; il s'agit de la résistance au triclosan chez *E. coli*, qui est provoquée par des mutations du gène *fabI* codant pour la protéine réductase énoyl-acyle intervenant dans la biosynthèse des acides gras et qui est l'une des cibles du triclosan. La modification de cette enzyme a été associée à une faible sensibilité au triclosan (Ortega Morente et al., 2013a). En revanche, le triclosan peut interagir avec d'autres cibles bactériennes lorsqu'il est utilisé à des concentrations élevées (Davin-Regli et al., 2012).

5-La résistance croisée entre biocides et antibiotiques

Actuellement, un débat est engagé sur la possible émergence de la résistance aux biocides en milieu hospitalier et que cette résistance pourrait être accompagnée de celle des antibiotiques, bien que peu de travaux ont pu confirmer cette co-résistance (Webber et al., 2015; Wand et al., 2017). Des études génétiques et bactériologiques ont révélé l'implication de biocides en tant que sélectionneurs et / ou inducteurs de mécanismes impliqués dans l'émergence de souches à sensibilité réduite aux biocides et aux antibiotiques (Fraise, 2002; Davin-Regli et al., 2012).

Les modes d'action des antibiotiques et de biocides partagent de nombreuses similitudes en dépit de différences dans leur activité, par exemple leur cible, leur comportement et leurs caractéristiques cliniques (Davin-Regli et al., 2012).

En ce qui concerne les bactéries à Gram négatif, de nombreux rapports font état d'une résistance croisée biocide-antibiotique. Ceux-ci comprennent *P. stutzeri* résistant à la chlorhexidine présentant une résistance croisée à de multiples antibiotiques, des *E. coli* résistants à l'huile de pin et au triclosan présentant un phénotype de multirésistance aux antibiotiques (*mar*), et de *P. aeruginosa* résistant au triclosan montrant une résistance élevée à plusieurs antibiotiques, ces derniers résultent d'une mutation de la régulation de systèmes d'efflux multidrogués endogènes ciblant à la fois des antibiotiques et des biocides (Poole, 2002).

La co-résistance, résultant de la sélection de gènes liés et qui codent pour des mécanismes de résistance sans aucun lien avec différents antimicrobiens, est un phénomène bien connu dans le cas de la résistance aux antibiotiques, comme dans le cas de la penta-résistance codée par le chromosome typique de *Salmonella Typhimurium* DT104 (Wales et al., 2015), lui conférant une résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, au sulfamide et à la tétracycline (Farzan et al., 2008). Cependant, la co-sélection via de tels liens génétiques peut se produire de manière plus large, entre gènes affectant la sensibilité aux biocides, aux métaux lourds et aux antibiotiques. La co-localisation de tels gènes sur des éléments mobiles, tels que des plasmides et des transposons soulève également la possibilité d'un transfert de co-résistance entre bactéries, un exemple évident est fourni par les intégrons de classe 1, qui codent un mécanisme d'efflux de QAC (*qacEΔ1*) en plus de la résistance aux sulfamides (*sulI*) et d'autres gènes de résistance aux antibiotiques (Wales et al., 2015).

L'exemple le plus impressionnant de résistance aux biocides liée à une résistance multiple aux antibiotiques est le régulon Mar (figure 19). Les souches qui expriment de manière constitutive la protéine Mar ont plus de 60 gènes chromosomiques affectés de manière secondaire, sont résistantes à la tétracycline, au chloramphénicol, au triclosan et à l'huile de pin. Il semble qu'une telle résistance à des composés structurellement non apparentés soit induite par un mécanisme d'efflux (Fraise, 2002).

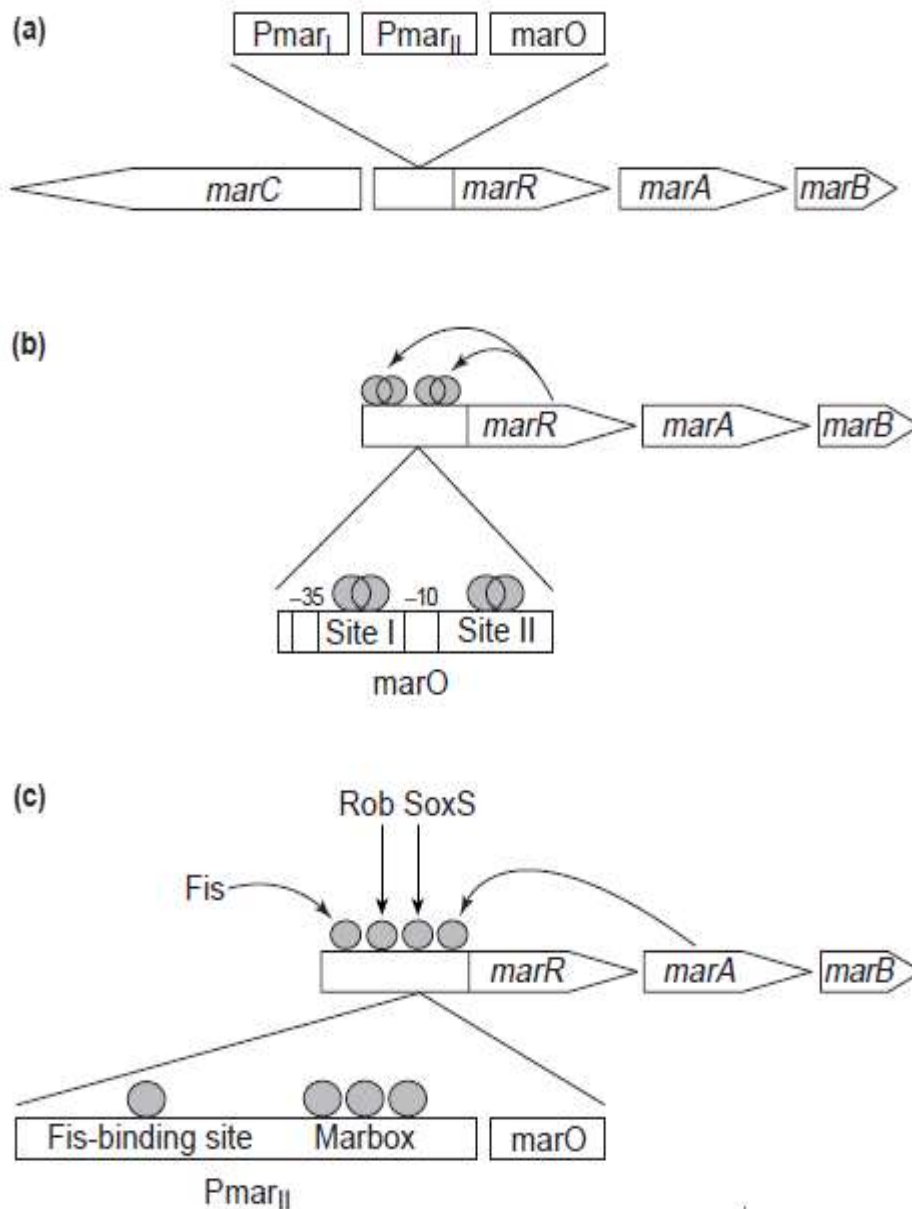


Figure 19 : Structure du régulon MAR chez *E. coli* (Alekhun et Levy, 1999).

Organisation génétique du locus *Escherichia coli mar*. (a) L'expression de *marC* et de *marRAB* est contrôlée par les promoteurs indépendants P_{marI} et P_{marII} , respectivement. *MarR* (144 résidus) et *MarA* (127 résidus) codent le répresseur et l'activateur *Mar*. *MarB* (72 résidus) a une fonction inconnue, de même que *MarC*, une protéine putative de la membrane interne de 221 acides aminés avec plusieurs hélices transmembranaires. (b) *MarR* régule négativement l'expression de *marRAB* en se liant à deux sites de l'opérateur *marO*. (c) Après l'inactivation de *MarR*, l'expression de *marRAB* est constitutive, mais son niveau d'expression dépend de l'interaction de *MarA*, *Rob* et *SoxS* (lorsqu'il est induit) avec une séquence (la zone de marquage) proximale aux hexamères 235/210. *Fis* joue un rôle accessoire dans ce contrôle positif



Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

1-Cadre d'étude

Les prélèvements ont été réalisés au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire Dr Tidjani Damerdji de Tlemcen, en ciblant les blocs opératoires des trois services chirurgicaux les plus consommateurs de biocides, à savoir les urgences médico-chirurgicales (UMC), chirurgie générale B (CH), chirurgie ortho-traumatologie (TRM).

2-Échantillonnage

Au cours de cette étude, 256 prélèvements de surface ont été réalisés en quatre mois, de Novembre 2015 jusqu'à Mars 2016, dans les blocs opératoires des services ciblés (chirurgie A, orthopédie et traumatologie et les urgences médico-chirurgicales), au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Nord-ouest algérien). Ces prélèvements ont été effectués par la technique d'écouvillonnage (Jomha et al., 2014), à partir de différents supports: table opératoire, table mayo, potence, porte, sol, chariot, table d'anesthésie, appareil d'anesthésie et guichet mural.

3-Isolement bactérien, purification et conservation des souches

Après enrichissement dans du bouillon BHIB pendant 24h à 37°C, les bactéries ont été isolées et purifiées par repiquage successif sur gélose Mac Conckey et BHIB. Les souches pures ont fait l'objet d'un examen microscopique (coloration de Gram).

Tous les bacilles à Gram négatif isolés ont été conservés à -80°C, conformément à la norme NF EN 12353 comme présenté dans la figure 20 (Allion, 2004).

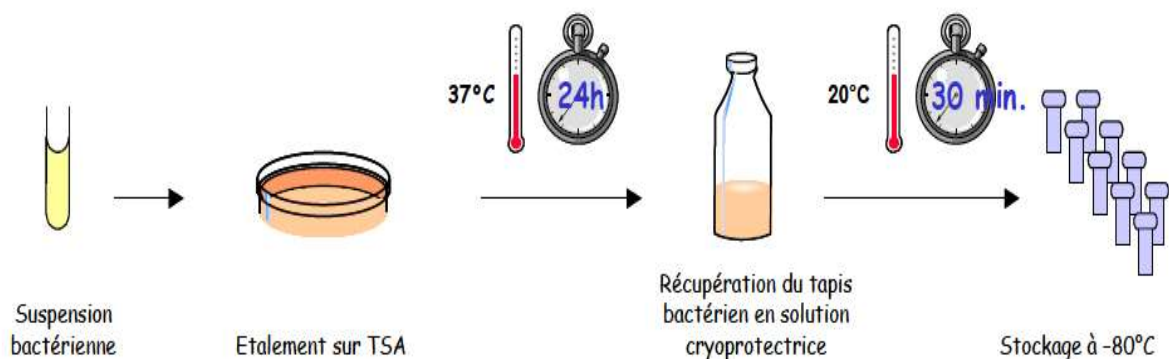


Figure 20. Représentation schématique du protocole de la conservation à -80°C (Allion, 2004).

4- Identification par le système API 20E (BIOMERIEUX) :

➤ Principe de la galerie :

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles à Gram (-) non fastidieux

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

➤ Préparation de la galerie :

- Réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une chambre humide.

➤ Inoculation de la galerie :

- Préparer un inoculum bien homogène dans de l'eau physiologique stérile, à partir de colonies de morphologie identique provenant d'une culture jeune de 18 à 24 heures.
- Introduire l'inoculum dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette.
- Remplir les tubes et cupules des tests CIT, VP et GEL.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des 3 tests soulignés ADH, LDC, ODC, H₂S, URE afin de créer l'anérobiose.
- Refermer la boîte et incuber à 30°C pendant 24 heures.

➤ Lecture et interprétation de la galerie :

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture
- L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

5-Test de sensibilité aux antibiotiques

5.1-Principe

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie à l'origine d'un processus infectieux. Cette technique consiste à utiliser des disques d'antibiotiques différents par méthode de diffusion sur gélose de Mueller-Hinton et interprété après mesure des diamètres d'inhibition selon les recommandations du CLSI (2014).

La sensibilité des isolats vis-à-vis des molécules suivantes : Amoxicilline (AML), Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TC), Ticarcilline+ Acide clavulanique (TCC), Piperacilline+ Tazobactam (TZP), Céfuroxime (CXM), Céftazidime (CAZ), Céfotaxime (CTX), Céfépime (CMP), Imipenème (IMP), sulfaméthoxazole + triméthoprime (SXT), Chloromphénicol (C), Ciprofloxacine (CIP), Ofloxacine (OFL), Amikacine (AK), Gentamycine (GN), Fosfomycine (FOS), Acide nalidixique (NA), Rifampicine (RIF), Tobramycine (TOB), Colistine (CT), et Aztréonam (AZT) a été testée par la technique de diffusion sur milieu gélosé (Mueller Hinton) conformément aux recommandations du CLSI (*Clinical and laboratory standard institute*) (CLSI, 2014).

Pour s'assurer que la diffusion des disques se fait dans des conditions optimales, la gélose Mueller Hinton doit être coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm et séchée avant l'emploi.

5.2-Technique

5.2.1-Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé dans 5 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune (18 à 24 h) sur le milieu d'isolement Mac Conckey avec une opacité qui doit être équivalente à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

5.2.2-Ensemencement des boîtes

Les boîtes sont ensemencées par écouvillonnage en frottant l'écouvillon sur la surface du milieu en stries serrées l'opération est répétée trois fois, en tournant la boîte de 60° afin d'avoir une culture en tapis homogène.

5.2.3-Application des disques d'antibiotiques

Les disques sont appliqués à l'aide d'un distributeur de disque à raison de six disques par boîte de 90 mm.

5.2.4-Conditions d'incubation

Incuber les boîtes 18 à 24h à une température de 37°C.

5.2.5-Lecture

Les diamètres des zones d'inhibition provoquées par les disques d'antibiotique sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse et comparés aux valeurs critiques du CLSI afin de les classer dans l'une des trois catégories sensible **S**, résistant **R** ou intermédiaire **I**.

6-Détermination de la tolérance aux biocides

Pour déterminer les niveaux de tolérance aux biocides, le protocole décrit par (**Burgos et al., 2014**) a été suivi. Les CMI's ont été déterminées par la technique de micro-dilutions et ont concerné les produits suivants : Chlorure de benzalkonium (BC) ; Cétrimide (CT) ; Chlorure d'hexadécylpyridinium (HDP), Hexachlorophène à 99% (CF), le triclosan (TC), et la Chlorhexidine (CH). Le triclosan et l'hexachlorophène ont été dissous dans de l'éthanol à 96% (10% en poids / volume). Les biocides restants ont été dissous de manière aseptique dans du TSB, de façon à avoir les concentrations finales croissantes allant de 8 à 2048 mg/L.

- 180 µl de chaque dilution (biocide) a été inoculée par une suspension bactérienne ajustée à une densité équivalente à 5.10^5 UFC/ml. Des contrôles positifs (TSB+ suspension bactérienne) et des contrôles négatifs (TSB+ biocide) ont été inclus dans la microplaque. L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24h et la lecture a été effectuée en utilisant un lecteur de microplaques de type bioteK ELx808.

7-Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée sur le culot bactérien en utilisant un kit d'extraction de l'ADN génomique bactérien (Xtrem biotech[®]) selon les instructions du fabricant. Les extraits d'ADN ont été stockés à -20°C.

7.1-Préparation de l'échantillon

Après revivification des souches, le culot bactérien a été préparé par centrifugation de 2 ml de la culture à 12000 rpm/minute. Le culot est mis à -20°C afin de fragiliser les cellules bactériennes.

7.2-Protocole

- Ajouter 100 µL de la solution 1 au culot bactérien
- Ajouter 2 µL de lysozyme et 4 µL de la solution d'ARNase
- Incuber 30 minutes à 37°C (mélanger chaque 10 minutes)
- Ajouter 600 µL de la solution 2 en agitant
- Incuber 20 minutes à température ambiante
- Ajouter 4 µL de la protéinase K
- Incuber 15 minutes à 55 °C
- Incuber 5 minutes à 80 °C pour inactiver les enzymes
- Ajouter 200 µL de la solution 3 et agiter brusquement 15s

- Incuber dans de la glace 15 minutes
- Centrifuger à 1300 rpm pendant 15 minutes
- Transférer le surnageant dans un nouveau tube
- Ajouter 600 µL de l'isopropanol, agitez par immersion 10 fois
- Centrifuger 10 minutes à 1300 rpm/minute et jeter le surnageant
- Laver avec 1000 µL de l'éthanol à 70%
- Centrifuger 10 minutes à 1300 rpm/minutes
- Sécher dans une centrifugeuse à 40°C pendant 15 minutes
- Dissoudre l'ADN dans 100 µL d'eau ultra-pure
- Stocker à -20°C

7.3-Dosage et vérification de la pureté des extraits de l'ADN

La concentration en ADN des extraits a été définie en utilisant un spectrophotomètre de type Thermo Scientific™ NanoDrop 2000c. La pureté des extraits a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose 0,1% (**annexe 03**).

8-Identification moléculaire des isolats

8.1-Amplification du gène ADNr 16S

Les isolats ont été identifiés en amplifiant la séquence du gène ADNr 16S par PCR selon (**Weisburg *et al.*, 1991; Abriouel *et al.*, 2005**) à l'aide des amorces suivantes :

5' -AGAGTTTGATCMTGGCTC-3' (forward) et 5'-CNCGTCCTTCATCGCCT-3' (reverse).

8.2-Purification des amplicons

Les amplicons ont été purifiés à l'aide d'un kit de purification (Illustra™ ExoProStar 1-step).

8.3-Séquençage et alignement des amplicons

Les amplicons purs ont été séquencés dans le centre de séquençage massif SISTEMAS GENOMICOS en Espagne, et la recherche d'homologie des séquences d'ADN obtenues a été effectuée en utilisant l'algorithme BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) disponible au National Center for Biotechnology Information (NCBI, Etats-Unis) sur le lien <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

9-Détection des gènes de résistance par PCR

9.1-Amplification des gènes

La présence de 21 gènes de résistance aux biocides et aux antibiotiques a été recherchée par la technique d'amplification en chaînes selon les protocoles décrits dans les travaux qui suivent.

Les gènes qui codent pour les pompes à efflux ont été recherchés par PCR selon (Swick et al., 2011) pour *mdfA*, (Hansen et al., 2005) pour le gène *oxqA* (codants pour la pompe à efflux multidrogue OqxAB), (Smith et al., 2008) pour *qacA/B*, *qacG* et *qacH*, (Kazama et al., 1998) pour *qacEΔ1*, gènes codants pour la résistance aux beta-lactamines *bla*_{TEM}, (Saenz et al. 2004) *bla*_{PSE}, (Chiu et al., 2006) *bla*_{CTX-M} et *bla*_{CTX-M-2}, (Bertrand et al., 2006) *bla*_{NDM-1}, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{VIM-2}, (Ramakrishnan et al., 2014) les gènes de résistance aux Tétracyclines *tet* (B), *tet*(C), *tet*(D), (Park et al., 2006) ; Guerra et al., 2001) pour les gènes de résistance aux Sulfonamide et triméthoprième *dfrA12* and *dfrA15* et (Saenz et al., 2004) pour les gènes de résistance au sulfamides *sul1*, *sul2* *sul3*.

(Park et al., 2006) pour le gène de résistance aux aminoglycosides *aac(6_)Ib*, (Chuanchuen et al., 2007) pour le gène qui code pour l'intégrase *int11*, (Saenz et al. 2004) pour *floR* le gène de résistance aux phénicoles, et (Madsen et al., 2000) pour *aadA* gène de résistance aux streptomycines.

Les amorces utilisées pour l'amplification des gènes recherchés sont listées dans le tableau 5.

Tableau 05 : Les amorces utilisées pour la détection des gènes étudiés.

Gene	Primer	Séquences 5'-3'	Taille d'amplicon (bp)	Référence
<i>mdfA</i>	mdfA-F	CATTGGCAGCGATCTCCTTT	103	(Swick et al., 2011)
	mdfA-R	TTATAGTCACGACCGACTTCTTTCA		
<i>oqxA</i>	oqxA F	GATCAGTCAGTGGGATAGTTT	670	(Hansen et al., 2005)
	oqxA R	TACTCGGCGTTAACTGATTA		
<i>bla_{TEM}</i>	TEM F	ATTCTTGAAGACGAAAGGGC	1150	(Saenz et al., 2004)
	TEM R	ACGCTCAGTGGAAACGAAAAC		
<i>bla_{PSE}</i>	Pse-F	GGCAATCACACTCGATGATGCGT	156	(Chiu et al., 2006)
	Pse-R	GGCTCAATACGGTCTAGACGAGT		
<i>bla_{CTX-M}</i>	CTX-M-F	CAATGTGCAGTACCAGTAA	540	(Bertrand et al., 2006)
	CTX-M-R	CGCAATATCGTTGGTGGTG		
<i>bla_{CTX-M-2}</i>	CTX-M-2-F	ATGATGACTCAGAGCATTTCG	876	(Bertrand et al., 2006)
	CTX-M-2-R	TCAGAAACCGTGGGTTAC		
<i>bla_{NDM-1}</i>	NDM-1-F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	621	(Ramakrishnan et al., 2014)
	NDM-1-R	CGGAATGGCTCATCACGATC		
<i>bla_{IMP}</i>	IMP-F	CTACCGCAGCAGAGTCTTTGC	640	(Ramakrishnan et al., 2014)
	IMP-R	GAACAACCAGTTTTGCCTTACC		
<i>bla_{OXA-23}</i>	OXA-23-F	GATGTGTCATAGTATTCGTCGT	1058	(Ramakrishnan et al., 2014)
	OXA-23-R	TCACAACAACATAAAAGCACTGT		
<i>bla_{VIM-2}</i>	VIM-2-F	ATGTTCAAACCTTTTTGAGTAGTAAG	801	(Ramakrishnan et al., 2014)
	VIM-2-R	CTACTAACGACTGAGCG		
<i>tet(B)</i>	tetB-F	TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG	659	(Park et al., 2006)
	tetB-R	GTAATGGGCCAATAACACCG		
<i>tet(C)</i>	tetC-F	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG	418	(Park et al., 2006)
	tetC-R	ATGGTCGTCATCTACCTGCC		
<i>tet(D)</i>	tetD-F	AAACCATTACGGCATTCTGC	787	(Park et al., 2006)
	tetD-R	GACCGGATACACCATCCATC		
<i>aac(6')-Ib</i>	aac(6')-Ib-F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482	(Park et al. 2006)
	aac(6')-Ib-R	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT		
<i>aadA</i>	aadA1a-F	GTGGATGGCGGCCTGAAGCC	526	(Madsen et al., 2000)
	aadA1a-R	ATTGCCAGTCGGCAGCG		
<i>floR</i>	FloR-F	CTTTGGCTATACTGGCGATG	266	(Saenz et al., 2004)
	FloR-R	GATCATTACAAGCGCGACAG		
<i>dfrA12</i>	dfrA12-F	ACTCGGAATCAGTACGCA	462	(Guerra et al., 2001)
	dfrA12-R	GTGTACGGAATTACAGCT		
<i>dfrA15</i>	dfrA15-F	GTGAAACTATCACTAATGG	473	(Guerra et al., 2001)
	dfrA15-R	CCCTTTTGCCAGATTTGG		
<i>sul1</i>	Sul-F	TGGTGACGGTGTTCCGGCATTTC	789	(Saenz et al., 2004)
	Sul-R	GCGAGGGTTTTCCGAGAAGGTG		
<i>sul2</i>	Sul2-F	CGGCATCGTCAACATAACC	722	(Saenz et al., 2004)
	Sul2-R	GTGTGCGGATGAAGTCAG		

<i>sul3</i>	Sul3-F	CATTCTAGAAAACAGTCGTAGTTTCG	990	(Saenz et al., 2004)
	Sul3-R	CATCTGCAGCTAACCTAGGGCTTTGGA		
<i>intl1</i>	intF	CCTGCACGGTTCGAATG	497	(Chuanchuen et al., 2007)
	intR	TCGTTTGTTCGCCAGC		
<i>qacA/B</i>	qacA/B F	ATG CCT TAT ATT TAT TTA ATA ATA GCC		(Swick et al., 2011)
	qacA/B R	ATG CGA TGT TCC GAA AAT GTT TAA C		
<i>qacH</i>	qacH F	CAA TAG TCA GTG AAG TAA TAG GCA GTG		(Swick et al., 2011)
	qacH R	TGT GAT GAT CCG AAT GTG TTT		
<i>qacΔE1</i>	qacΔE1F	GGGAATTCGCCCTACACAAATTGGGAGA	370	(Kazama et al., 1998)
	qacΔE1R	GCTGCAGCTGCGGTACCACTGCCACAA		

9.2-Électrophorèse sur gel d'agarose

Elle permet de séparer les molécules d'ADN en fonction de leurs tailles. Dans notre cas, elle a été utilisée pour détecter la présence des gènes recherchés dans les produits de PCR.

9.2.1-Préparation du gel d'agarose

Le gel a été préparé selon le protocole suivant avec une concentration de 1% ou 2% d'agarose. La quantité adéquate d'agarose est dissoute avec un chauffage aux microondes dans 150 ml de tampon TBE 1X (Annexe 2), puis la solution est coulée dans des moules. Après refroidissement et ajout de l'agent intercalant SYBR Green, le peigne est alors déposé et le gel laissé pour solidifier. Ensuite, les gels sont transférés dans les cuves d'électrophorèse remplies du TBE 1X.

9.2.2-Dépôt des échantillons et migration

Une quantité de 10µL du produit de PCR est mélangée avec 2 µL de tampon de charge (Annexe 3). Le mélange est ensuite transféré vers les puits, puis la cathode est branchée du côté des puits sous une tension de 80 V pendant 40 minutes.

9.2.3-Révélation

La révélation se fait dans une chambre UV de type Chemidoc XRS Chemiluminescent Gel Documentation couplée à un logiciel Gel Doc™.

10-Analyses statistiques

L'analyse statistique, y compris la matrice de corrélation, a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS 22 *statistics package* pour Windows. Les corrélations positives ont été définies comme très faibles (0.00–0.19), faible (0.20– 0.39), modérée (0.4–0.59), forte (0.60– 0.79), ou encore très forte (0.80–0.99).



Résultats et discussion

1-Résultats et discussion

Sur un total de 256 prélèvements de surface effectués durant la présente étude dans différents sites de l'environnement hospitalier (tableau 06, figure 21), 175 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées (62%).

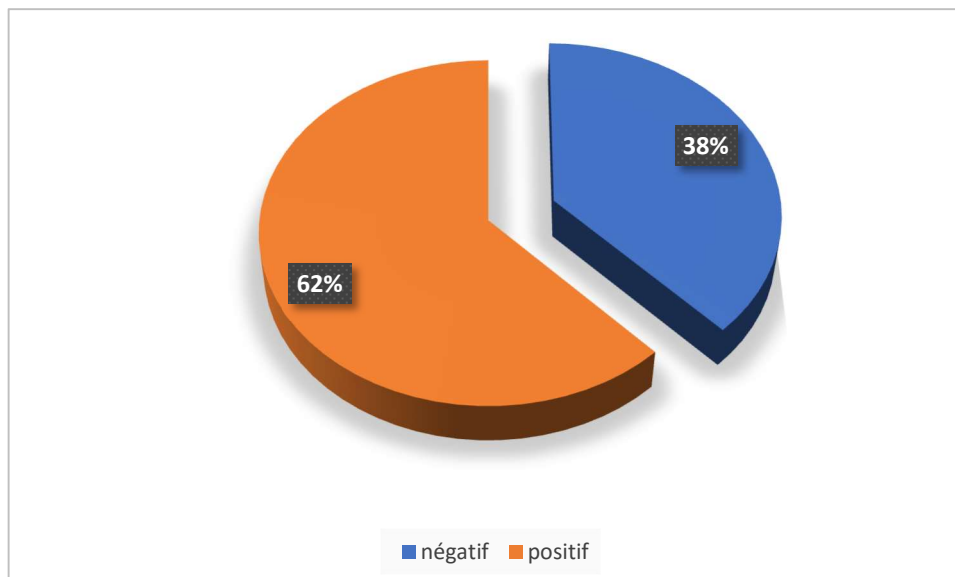


Figure 21 : Taux de prélèvements positifs et négatifs

Tableau 06 : Fréquences des prélèvements par site

Site de prélèvement	Fréquence	%
Sol	12	6,9
Chariot	33	18,9
Table de mayo	14	8,0
Porte	9	5,1
Potence	8	4,6
Scialytique	19	10,9
Évier	12	6,9
Table opératoire	25	14,3
Appareil d'anesthésie	10	5,7
Chariot d'anesthésie	10	5,7
Mur	5	2,9
Guichet mural	18	10,1
Total	175	100,0

Les isolats sont répartis sur trois services à raison de 71 souches isolées du bloc opératoire du service des urgences médico-chirurgical, 56 de la chirurgie A et 48 du service orthopédie-traumatologie.

Nos résultats ont montré une forte abondance des entérobactéries avec un taux d'isolement de 74,51% (figure 22). Ce résultat dépasse nettement ceux signalés par **(Jalalpoor, 2011)** et **(Debabza, 2015)** ayant rapporté respectivement 18,45% et 31,11% .

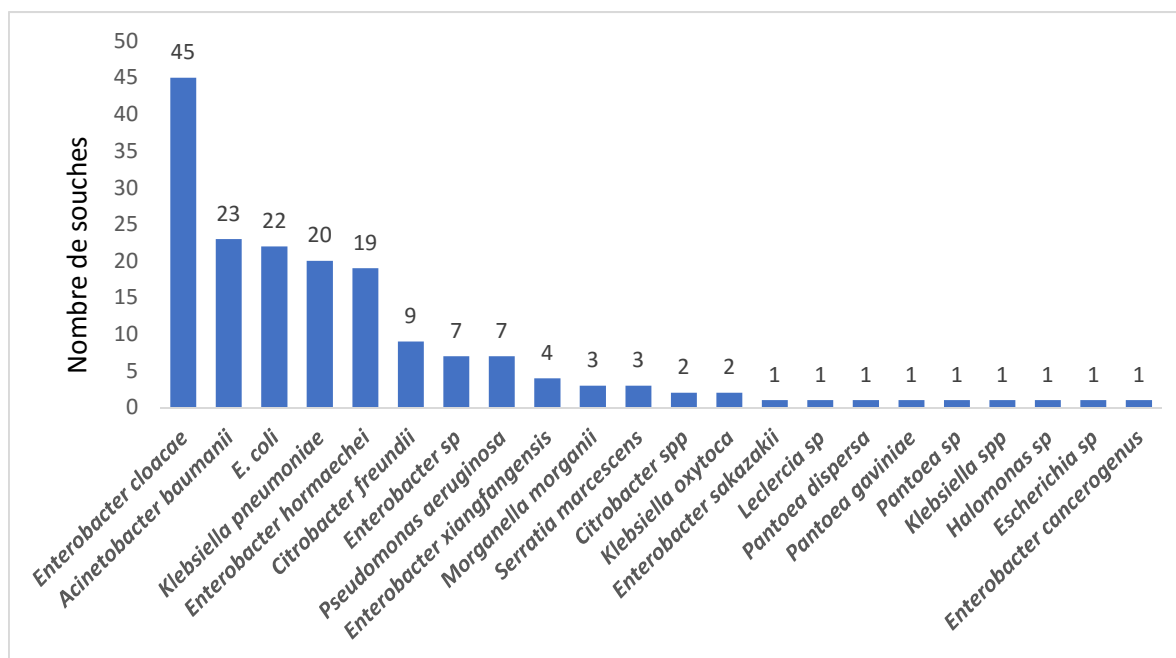


Figure 22 : Fréquences des espèces isolées.

L'identification 16S a révélée que *Enterobacter cloacae* a été l'espèce la prédominante inscrivant un taux de 25,7%, suivi de *A. baumannii*. Ces chiffres ne reflètent pas fidèlement le statut réel de la contamination des surfaces, du fait des conditions de croissance défavorables pour certaines bactéries qui peuvent se miniaturiser (bactérie naines) et sont alors difficiles à mettre en évidence dans les prélèvements, en plus de la présence des bactéries viables non cultivables **(Hajjar et al., 2000)**. Il est à signaler qu'aucun procédé ne permet de détacher simultanément toutes les bactéries qui adhèrent à une surface **(Hartemann et al., 1997)**. La contamination de ces surfaces est due soit à un contact directe avec la flore des patients et du personnel soignant, soit à la sédimentation des bactéries présentes dans l'air **(Hajjar et al., 2000; Yezli et al., 2014)**.

Ces surfaces contaminées constituent des réservoirs dans lesquels les micro-organismes peuvent survivre pendant plusieurs mois, augmentant le risque de contamination croisée par contact direct ou indirect avec les patients et provoquant ainsi de graves infections **(Yezli et al., 2014)**. La présence de telles bactéries peut être un excellent indicateur de mauvaise pratique d'hygiène **(Dancer, 2004)**.

2-Répartition des souches en fonction du groupe bactérien

2.1- Les entérobactéries

Baba-Ahmed et al.,(2012) ont déjà signalé la présence de souches d'*E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* sur les surfaces du CHU de Tlemcen, **Bellifa et al., (2013)** ont également pu isoler des souches de *K. pneumoniae* à partir de dispositifs médicaux issus de plusieurs services. Ces isolats ont une bonne aptitude à former des biofilms, ce qui leur permet de persister longtemps dans l'environnement hospitalier.

Parmi les entérobactéries isolées dans ce travail, les bactéries appartenant au groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*) sont les plus fréquemment isolées (58,85%). Ce groupe est connu pour sa forte implication dans de nombreuses infections nosocomiales. Dans une étude réalisée au niveau du CHU Ibn Rochd d'Annaba, une forte fréquence d'isolement de ces bactéries chez les patients des différents services de chirurgie a été constatée (**Nedjai et al., 2012**).

Les bactéries du genre *Enterobacter* ont été les plus prédominantes. En effet, sur un total de 77 isolats, *E. cloacae* représente 58,4%, suivie d'*E. hormaechei* (24,7%). Ces prélèvements ont également permis l'isolement de trois autres espèces à savoir *E. cancerogenus*, *E. sakazaki*, et *E. xiangfangensis*, cette dernière a été décrite pour la première fois en 2014 en chine (**Gu et al., 2014**), ainsi sa place dans les infections nosocomiales reste obscure.

Pour le genre *Escherichia*, 23 souches ont été isolées inscrivant un taux de 13,12%. Ce pourcentage se rapproche de celui rapporté par (**Ahoyo et al., 2007**) retrouvé dans 11% des prélèvements de l'environnement hospitalier, mais nettement supérieur à celui de (**Nedjai et al., 2012**) étant de 0,6% .

Pour le reste des souches isolées (18), elles appartiennent aux genres suivants : *Citrobacter* (*Citrobacter* spp), *Morganella* (*Morganella Morganii*), *Pantoea* (*Pantoea* spp.) et *Lecleria* (*Lecleria* spp.).

Une étude tunisienne a enregistré la présence des bactéries appartenant aux genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter* dans des échantillons prélevés à partir de l'environnement hospitalier (**Dziri et al., 2016**).

2.2- Les bacilles à Gram négatif non fermentaire

Ces organismes sont omniprésents dans la nature, en particulier dans le sol et l'eau. En milieu hospitalier, ils peuvent être isolés des instruments tels que les humidificateurs des systèmes de ventilation artificielle, les matelas et d'autres équipements, ainsi que la peau du personnel soignant, la plupart d'entre eux présentent un profil de multirésistance aux drogues et une résistance innée à de nombreux antibiotiques (**Chawla et al., 2013**).

Les prélèvements analysés ont révélé la présence de bacilles à Gram négatif non fermentaires classiquement isolés de l'environnement hospitalier, à savoir *Acinetobacter* spp et *Pseudomonas aeruginosa* ; dans les blocs opératoires du CHU de Tlemcen. Ils ont une forte capacité à survivre sur des surfaces inanimées et de provoquer de graves infections surtout chez les patients en soins intensifs (**Floret et al., 2009**; **Alatouni et al., 2016**).

Bien que seulement sept souches de *P. aeruginosa* ont été isolées durant cette étude avec un taux de 4% qui se rapproche de 3,6 % rapporté par (**Jalalpoor, 2011**) ; cela n'exclut pas la dissémination de cette bactérie provoquant ainsi des épidémies dans les services hospitaliers (**Floret et al., 2009**). La capacité de tolérer certaines molécules couramment utilisées dans la désinfection en milieu hospitalier facilite la colonisation des surfaces (**Orji et al., 2005**).

Dans la présente étude, le taux relativement élevé d'isolement de l'espèce *A. baumannii* (13,1%), est supérieur à celui trouvé par (**Thom et al., 2011**) (9,8%) et celui de (**Debabza, 2015**) (0,36%). Parmi les bacilles à Gram négatif, ce microorganisme se distingue par sa capacité à persister dans l'environnement pendant de longues périodes et sa présence dans le milieu hospitalier est souvent liée à des épidémies (**Thom et al., 2011**). Son existence au CHU de Tlemcen a été déjà rapportée non seulement dans l'environnement (**Mesli et al., 2013**), mais aussi sur des dispositifs médicaux (**Mesli et al., 2013**; **M'hamedi et al., 2014**).

3-Répartition des souches en fonction des services

La répartition des souches en fonction des services (figure 23) a montré que le service des urgences médico-chirurgicales est le plus contaminé avec un taux d'isolement de 41%, suivi par le service de chirurgie A (32%) et le service d'orthopédie-traumatologie (27%). Ce résultat pourrait être expliqué par le nombre important d'interventions effectuées au niveau du service des UMC par apport aux deux autres services ciblés.

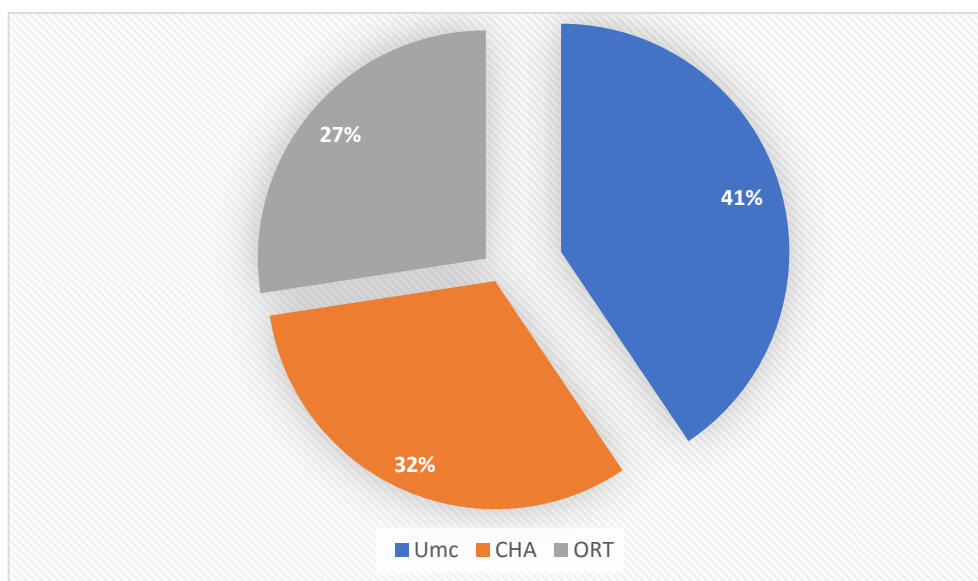


Figure 23 : Taux d'isolement en fonction des services

3.1- Répartition des souches dans le service des urgences médico-chirurgicales

Le service des urgences médico-chirurgicales est le service le plus fréquenté par les patients et donc son bloc compte un plus grand nombre d'interventions. Dans le présent travail, 71 souches ont été isolées de ce service dont 22 souches ont été assignées à l'espèce *E. cloacae* soit 48.9% du total des *E. cloacae* (Figure 24). Au Maroc, cette espèce s'inscrit également parmi les bactéries les plus fréquemment isolées du service des urgences (Saouide el ayne et al., 2014). Sa fréquence est tout aussi importante dans les infections du site opératoire (Takesue et al., 2017). D'autre *Enterobacteriaceae* telle que *Enterobacter non cloacae* (18), *Escherichia spp* (12), *K. pneumoniae* (3), et *C. freundii* (1) ont été aussi présentes dans ce service. Leur présence a été accompagnée par celle des bacilles à Gram négatif non fermentaire *P. aeruginosa* (1) et *A.baumannii* (12), ce dernier qui colonise la peau des personnes en bonne santé, a été détecté sur des dispositifs médicaux (Agata et al., 2000; Wang et al., 2003).

Un nombre croissant d'arguments soutient la contribution de la contamination des surfaces inanimées et de l'équipement dans la transmission d'agents pathogènes aux patients dans les urgences ; ainsi les mains du personnel soignant sont le principal vecteur de transmission croisée d'agents pathogènes, avec environ 20 à 40% des infections nosocomiales résultant d'infections croisées par les mains du personnel soignant (Russotto et al., 2016),

Par ailleurs, des enquêtes d'observances admettent que les patients colonisés ou infectés sont un réservoir potentiel de contamination environnementale (Palmore et al., 2013; Russotto et al., 2016).

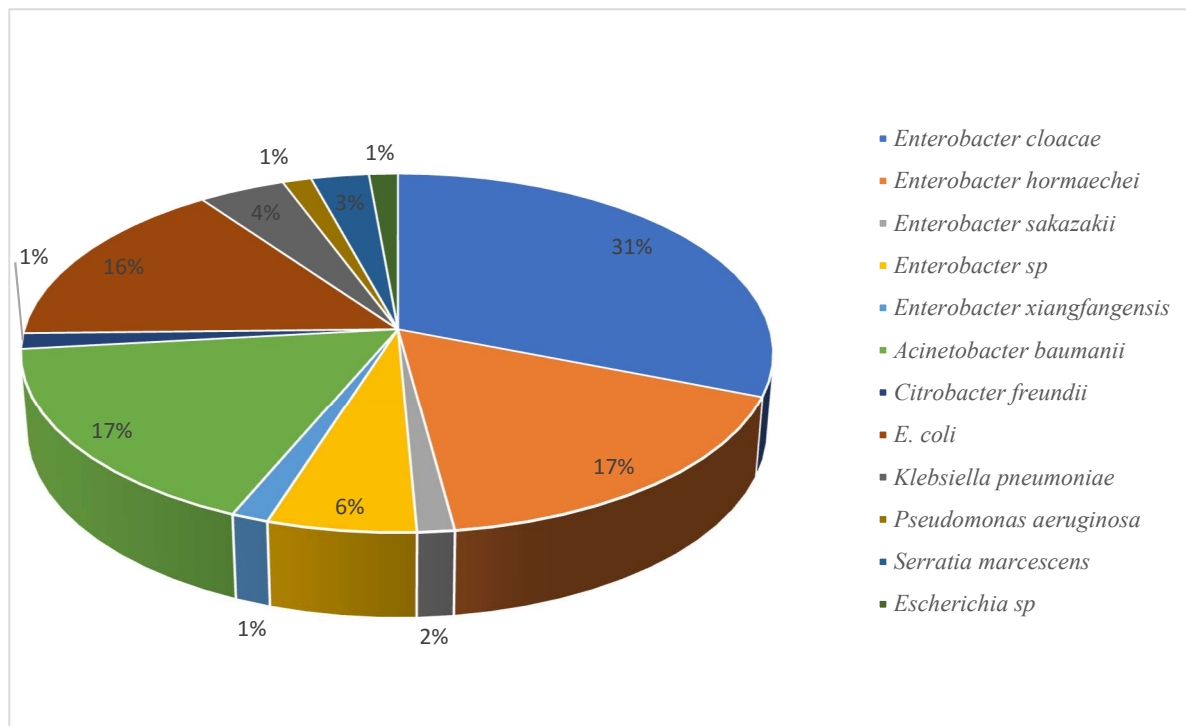


Figure 24 : Distributions des souches isolées du service des urgences médico-chirurgicales

3.2- Répartition des souches dans le service de chirurgie A

Le service de chirurgie A prend en charge plusieurs types de chirurgie dont la chirurgie endocrinienne, la chirurgie digestive et la chirurgie ambulatoire ; ce qui lui a permis de recruter un nombre important de patients, et par conséquent il compte un nombre élevé d'interventions au niveau de son bloc opératoire.

Durant cette étude, 56 souches de bacilles à Gram négatif appartenant à plusieurs espèces, telles que *E. cloacea*, *C. freundii*, *E. coli* et *K. pneumoniae*, ont été isolées à partir du service de chirurgie A (figure 25). Nos résultats montrent que, des BGN isolés de l'environnement du service de chirurgie A, *E. cloaceae* se distingue par la fréquence la plus élevée.

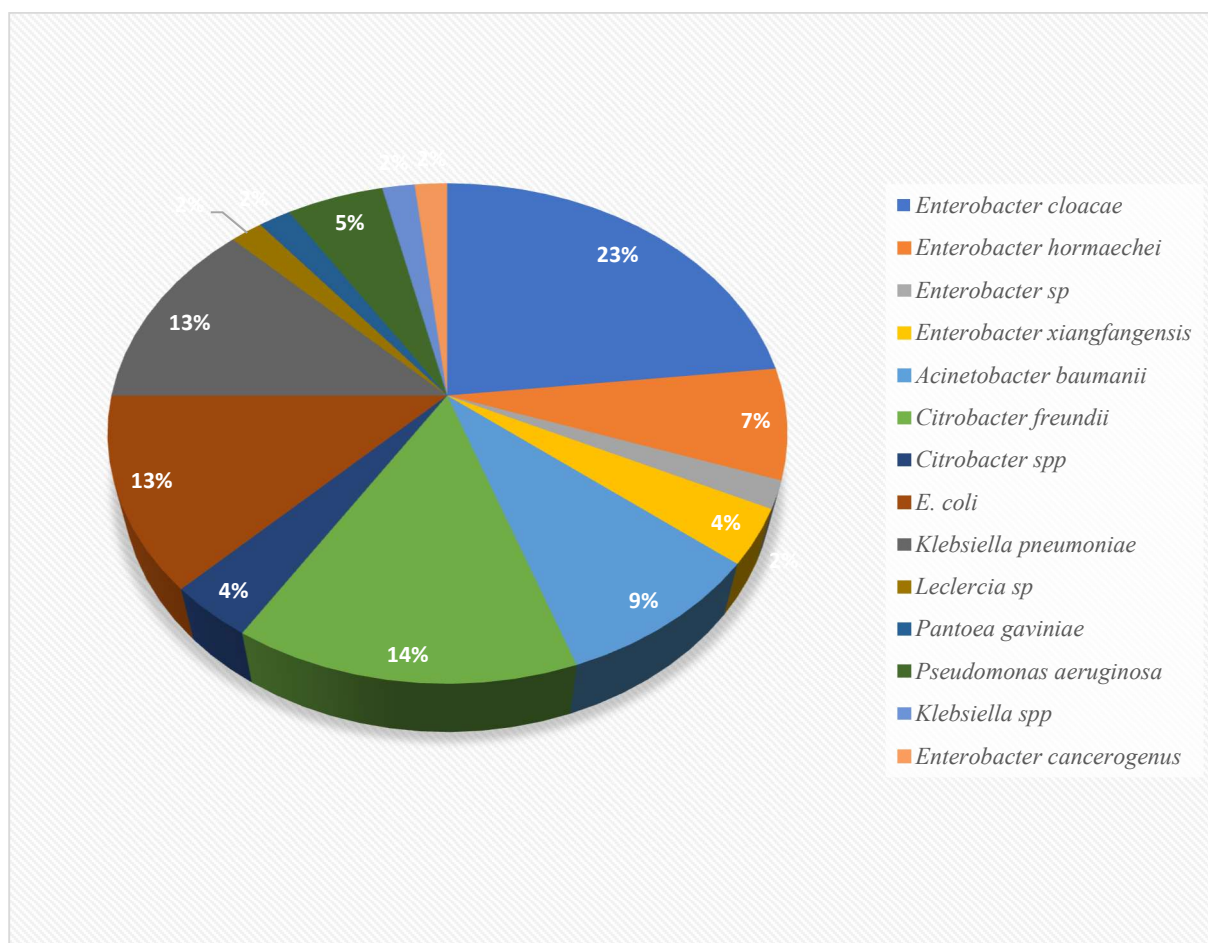


Figure 25 : Distribution des souches isolées du service de la chirurgie A

Dans une étude américaine, des chercheurs ont signalé une augmentation significative des infections du site opératoire causées par des bactéries multirésistantes où les entérobactéries occupent une place très importante (Sartelli et al., 2018). Il est à noter que la limite entre l'environnement hospitalier et le patient reste éphémère, ainsi les bactéries présentes dans cet écosystème peuvent facilement diffuser pour atteindre le malade.

Les BGN sont régulièrement à l'origine des infections du site opératoire dans certains types de chirurgies digestives (Owens et Stoessel, 2008). La chirurgie intestinale est l'une des chirurgies dont l'incidence des infections du site opératoire est importante. Au Japon, de 2008 à 2010, les taux d'incidence des infection du site opératoire (ISO) pour la chirurgie du côlon et du rectum étaient respectivement de 15 et 17,8% (Kameda, 2018).

3.3- Répartition des souches dans le service d'orthopédie-traumatologie

Sur la base de la distribution des BGN, le service d'ortho-traumatologie avec un total de 48 souches isolées, occupe la troisième place.

Dans les trois services ciblés dans cette étude, *E. cloacae* et *K. pneumoniae* figurent parmi les espèces les plus isolées (10 isolats) ; suivi d'*A. baumannii* (Figure 26).

Nos résultats ont également mis en évidence la présence de 4 souches d'*E. coli* et d'une souche de *S. marcescens*. Par ailleurs l'espèce *M. morganii* a été exclusivement isolée que dans ce service (3 isolats).

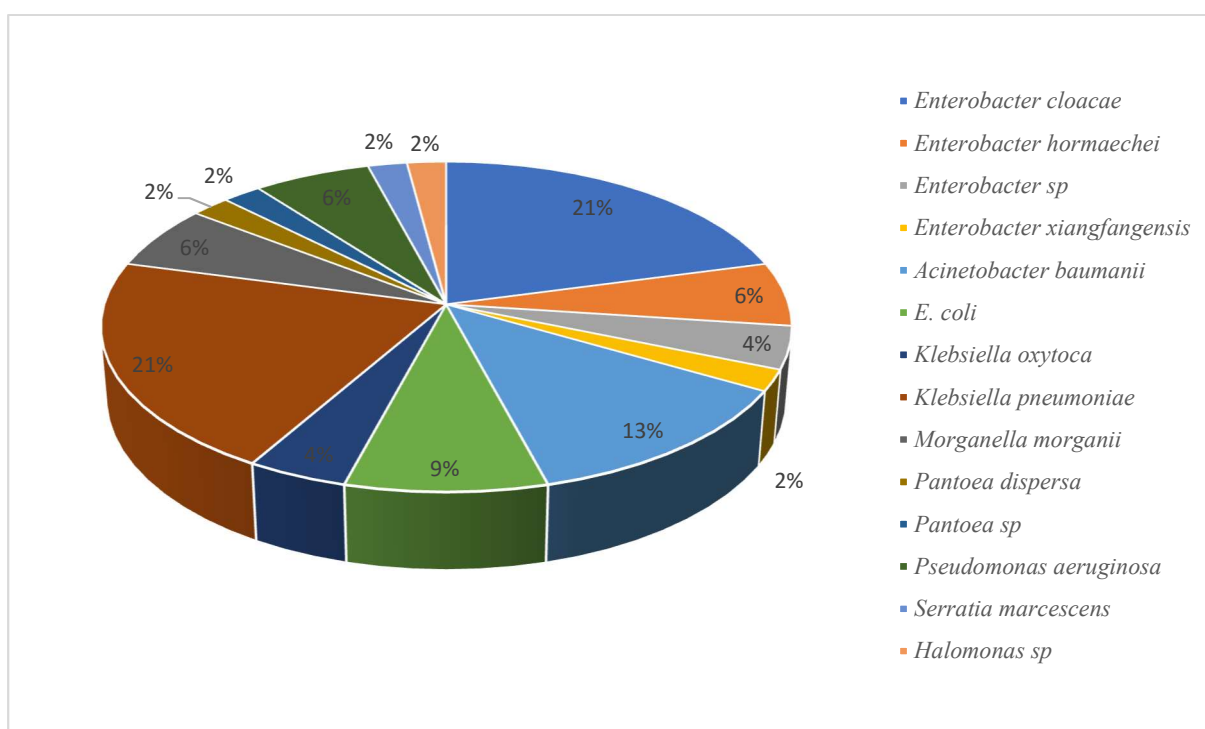


Figure 26 : Distribution des souches isolées du service d'orthopédie-traumatologie

Dietz *et al.*, (2019) ont rapporté la présence d'*E. coli* et de *S. marcescens* sur les surfaces de la salle opératoire destinée à des chirurgie orthoplastiques, ces mêmes contaminants ont également été trouvés sur des cultures de tissus préopératoires.

Les infections du site opératoire sont une complication grave en chirurgie orthopédique (Bhat *et al.*, 2018). En Afrique, leur incidence varie de 4,2 % à 23,2 % (Tékpa *et al.*, 2017). Parmi les agents importants impliqués dans cette complication post-opératoire, *E. cloacae* et *K. pneumoniae* sont les plus prépondérantes (Linda *et al.*, 2012).

La présence alarmante de bacilles à Gram négatif isolés dans ce travail pourrait être le résultat de certaines défaillances en matière d'hygiène hospitalière au niveau de ces trois services.

4-Répartition des souches en fonction de l'origine du prélèvement

La répartition des souches en fonction du site de prélèvement (figure 27) a montré que les chariots, utilisés pour le dépôt et le transport des instruments chirurgicaux et des compresses stériles, sont les surfaces les plus contaminées avec un taux d'isolement de 19%, suivi des tables opératoires (14 %), les scialytiques et le guichet mural (11%). Avec une répartition relativement homogène, la contamination n'a pas épargné d'autres éléments tel que la table de mayo. Curieusement, ces surfaces sont plus contaminées que le sol (7%) et traduisent fidèlement un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière. Cette omniprésence des bacilles à Gram négatif à proximité des patients constitue une réelle menace pour leur santé en générant de graves infections.

La contamination de l'environnement hospitalier change d'un établissement à un autre, ainsi dans une étude réalisée au Togo, les auteurs ont rapporté une contamination des tables opératoires et des lavabos (**Dossim et al., 2017**). Cependant, une autre enquête menée au Nigeria a signalé l'absence totale des bacilles à Gram négatif dans les différents sites du bloc opératoire (**Nwankwo, 2012**).

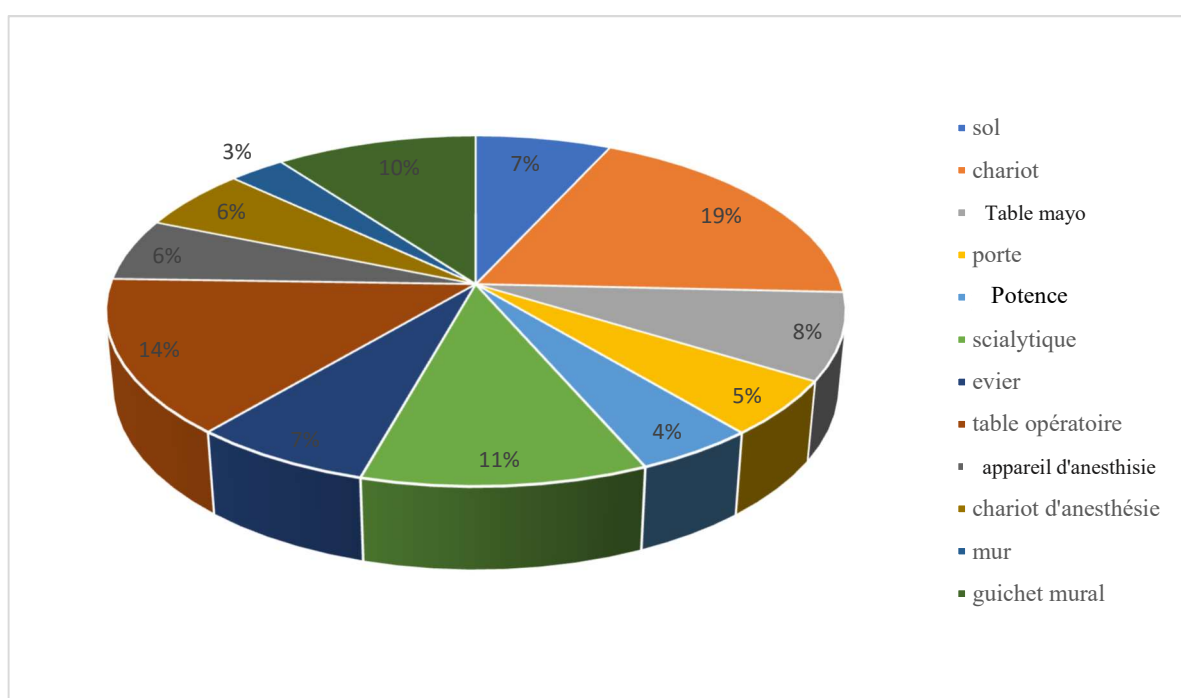


Figure 27 : Distribution des souches en fonction du site de prélèvement

5-Étude de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme a permis non seulement d'étudier la résistance mais aussi d'orienter l'identification, ainsi l'analyse statistique du test de sensibilité aux antibiotiques chez les souches isolées (figure 28) a révélé une grande hétérogénéité des isolats et des taux de résistance différents entre les familles d'antibiotiques testées. L'ensemble des molécules testées a été touché par le phénomène de résistance mais à des degrés différents.

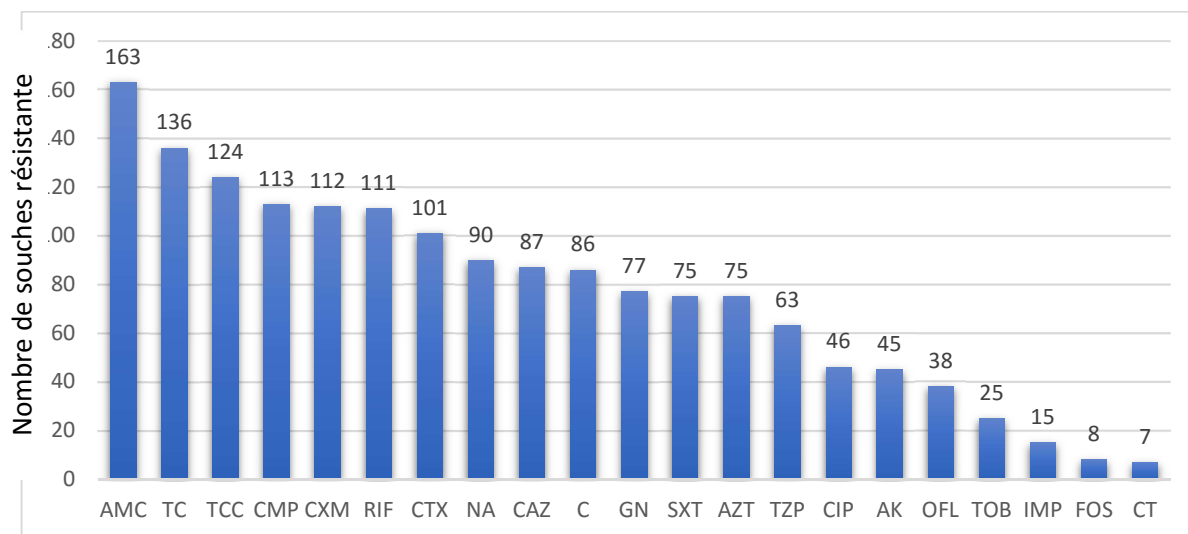


Figure 28 : Résistances aux antibiotiques chez les souches testées

5.1-Les bêta-lactamines

Les bêta-lactamines demeurent les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité des molécules (Robin et al., 2012; Baba-Ahmed-kazi-Tani et Arlet, 2014). Cependant, les bactéries en hébergeant naturellement, et en acquérant des mécanismes de résistances limitent considérablement leur activité (Robin et al., 2012).

Dans notre étude, certaines bêta-lactamines n'ont pas été efficaces inscrivait des taux de résistance de l'ordre de 93,1% pour l'association Amoxicilline-acide clavulanique suivi de la Ticarcilline avec un taux de 77,7%, l'association de l'acide clavulanique à la Ticarcilline n'a pas restauré significativement son efficacité ; ces taux sont proches de ceux rapportés par Debabza en (2015), qui ont enregistré respectivement pour l'AMC et la TC 81,58%, et 89,91%. L'inefficacité de ces molécules peut amplifier les craintes des cliniciens dans le traitement des infections.

Les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, céftazidime) et les monobactames (aztréonam) testés ont exprimé une efficacité modérée avec des taux de résistances respectivement de 49.7%, 57.7% et 36%.

Plusieurs études ont rapporté que la résistance aux aminopenicillines, carboxypénicillines et céphalosporines chez les bacilles à Gram négatif a pour origine plusieurs mécanismes, dont la production d'enzymes hydrolysant les antibiotiques tels que les bêta-lactamases à spectre élargie et les céphalosporinases de bas et de haut niveau (**Philippon et Arlet 2005; Paterson 2006; Kaye et Pogue 2015; Ruppé et al., 2015**). Parmi les bêta-lactamines testées, l'imipénème a été la molécule la plus efficace inscrivait un taux de résistance de 8,6%. Ce résultat se rapproche des 10,1 % rapporté par **Yagoubat et al., (2016)** au CHU de Ouargla et distinctement inférieur à 19% signalé à Annaba (**Bourafa et al., 2018**). La résistance croissante aux carbapénèmes étant une préoccupation particulière en raison du manque d'options de traitements alternatifs efficaces et sûres (**Paul et al., 2014 ; Davoudi-Monfared 2018; Doi, 2019**), cette résistance a été signalée dans le monde entier et par de nombreux auteurs (**Mataseje et al., 2012; Armand-lefèvre et al., 2013; Sahu et al., 2016; Mueller et al., 2019**).

5.2-Les aminosides

Les aminoglycosides sont des antibiotiques à large spectre qui ont été traditionnellement utilisés pour le traitement des infections graves des bactéries à Gram négatif (**Hermann, 2007; Gad et al., 2011**). Dans la présente étude, les aminosides n'ont pas été épargnés du phénomène de résistance et bien que la Tobramycine a été active sur 87,01% des souches, l'Amikacine été efficace contre 74,3 % des isolats, 56% des souches étudiées ont été résistantes à la Gentamicine. Des auteurs ont mis en évidence un nombre important de mécanismes qui peuvent être à l'origine de cette résistance dont la modification de la cible et l'intervention des transférases (**Blair et al., 2015; Garneau-Tsodikova et Labby, 2015**).

5.3-Les Quinolones

Parmi les fluoroquinolones testées, l'ofloxacine semble relativement plus active avec un taux de résistances de 21,7%. Ce taux augmente pour atteindre 26,3% vis-à-vis de la ciprofloxacine. Cette différence peut être liée à la fréquence d'utilisation de chaque molécule. Il est à noter que l'acide nalidixique a été moins actif que les deux fluoroquinolones.

Dans l'est algérien, **Debabza et al., (2014)** ont rapporté un taux de résistance plus élevé pour la ciprofloxacine (34.22%).

5.4-Autres antibiotiques

Parmi l'ensemble des molécules testées, la fosfomycine et la colistine semblent se distinguer, exprimant des taux de résistances relativement faibles respectivement de 4,6 et 4%.

6-Répartition de la résistance aux antibiotiques selon le genre bactérien

La résistance émergente des entérobactéries est un problème important qui nécessite une attention immédiate. En effet, le phénotype de résistance dû à la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et de carbapénémases devient un problème majeur de santé publique dans le monde (**Mathlouthi et al., 2016**).

6.1-*Enterobacter* spp.

Certaines bêta-lactamines n'ont pas été efficaces inscrivant des taux de résistance de l'ordre de 70% pour la Ticarcilline et la céfepime. Avec 67% de résistance, l'association de l'acide clavulanique à la Ticarcilline n'a pas amélioré son activité. Les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, céftazidime) et les monobactames (Aztréonam) testés se sont caractérisés par une efficacité moyenne qui s'est traduite respectivement par des taux de résistances de l'ordre de 60%, 54,5% et 42,86%. Parmi les bêta-lactamines testées, l'imipénème a été la molécule la plus efficace avec seulement trois souches résistantes. L'activité des quinolones a été différente selon les molécules utilisées ; ainsi nous avons enregistré un taux de résistance de 46,75% pour l'acide nalidixique, 20,78% pour la ciprofloxacine et 11,69% pour l'ofloxacine (Figure 29).

Les aminosides n'ont pas échappé au phénomène de résistance et bien que la Tobramycine ait été active sur 87,01% des souches, la gentamicine a été inefficace sur 45,45%. Il faut signaler l'activité satisfaisante de la colistine où aucune souche n'a pu résister à cette molécule.

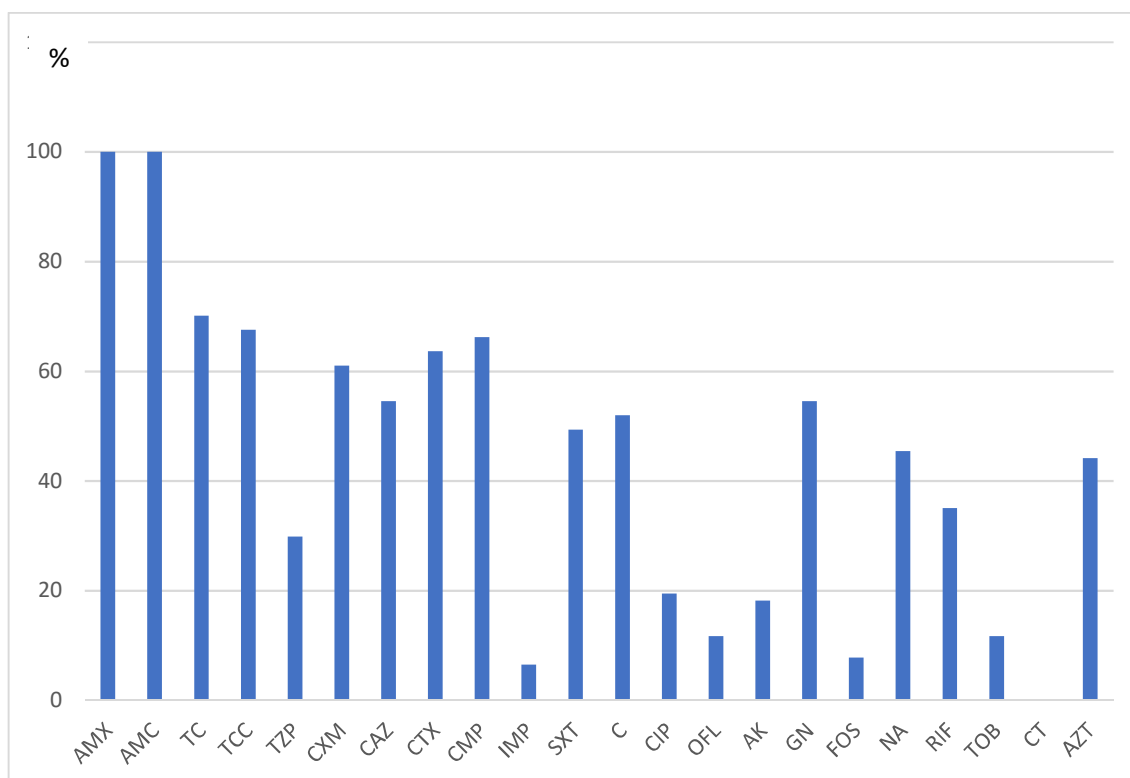


Figure 29 : Taux de résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter* spp.

6.2-*Escherichia coli*

Parmi les molécules de bêta-lactamines testées, l'AMC a été totalement inefficace vis-à-vis des souches d'*E. coli* testées, la TC et l'association de la ticarcilline à l'acide clavulanique ont enregistré une activité très modérée inscrivant respectivement des taux de sensibilité de 17,4% et 21,7%. Les céphalosporines de troisième génération ont aussi été touchées par la résistance mais à des taux moins élevés et aucune résistance à IPM n'a été détectée (figure 30). À l'exception de la colistine et la fosfomycine, des résistances ont été aussi observées à l'égard de toutes les autres molécules testées, la plus étonnante est celle à la rifampicine (82,6%).

Les souches d'*E.coli* isolées par (Nwankwo, 2012) ont montré un comportement différent, dans lequel, elles ont exprimé des taux variables de sensibilité (AMC 41,6%, CXM 25%, CTX 58,3%, CAZ 50%, CN 33,3%, OFX 75%, et 41,6% pour la CIP).

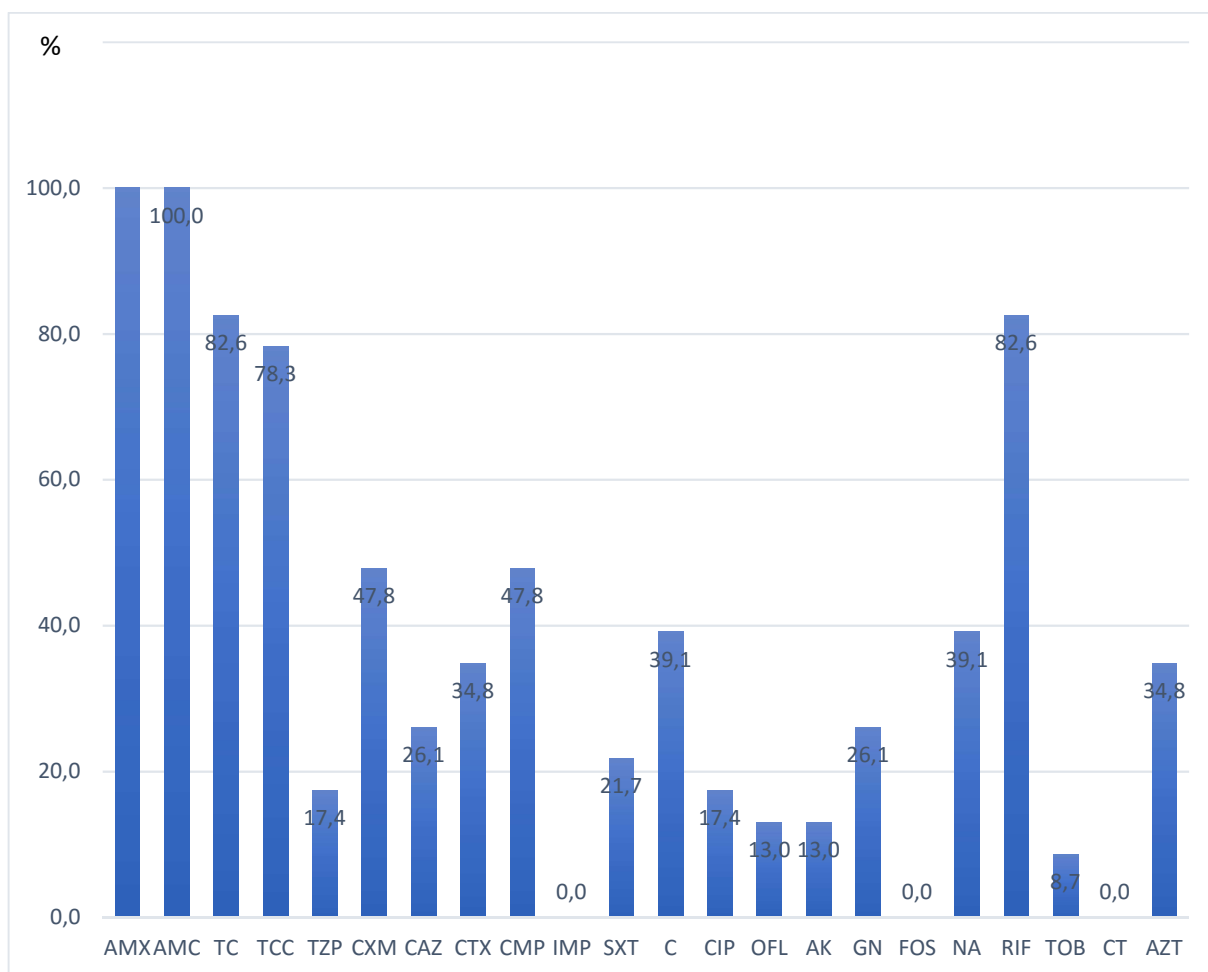


Figure 30 : Taux de résistance aux antibiotiques chez *E.coli*

6.3-Klebsiella spp.

Les souches appartenant au genre *Klebsiella* étudiées au cours de ce travail, ont dévoilé des taux de résistance relativement moyens vis-à-vis des bêta-lactamines. Ce taux diminue de manière conséquente pour atteindre 4,3% envers l'IMP, cette dernière pourrait être inquiétante si elle se dissémine en milieu hospitalier. Parmi les antibiotiques testés la CT, la FOS et le C ont conservé une bonne activité contre les souches de *Klebsiella spp.* (Figure 31).

Plusieurs souches de *K. pneumoniae* isolées à partir des surfaces de l'environnement hospitalier dans l'est Algérien (Sétif, Bejaia et Constantine) ont été signalées par (Zenati et al. 2017) où elles ont exprimé des taux de résistance remarquables pour les différentes familles d'antibiotiques testées, et contrairement à nos résultats, cette étude n'a pas révélé de résistance à l'IMP.

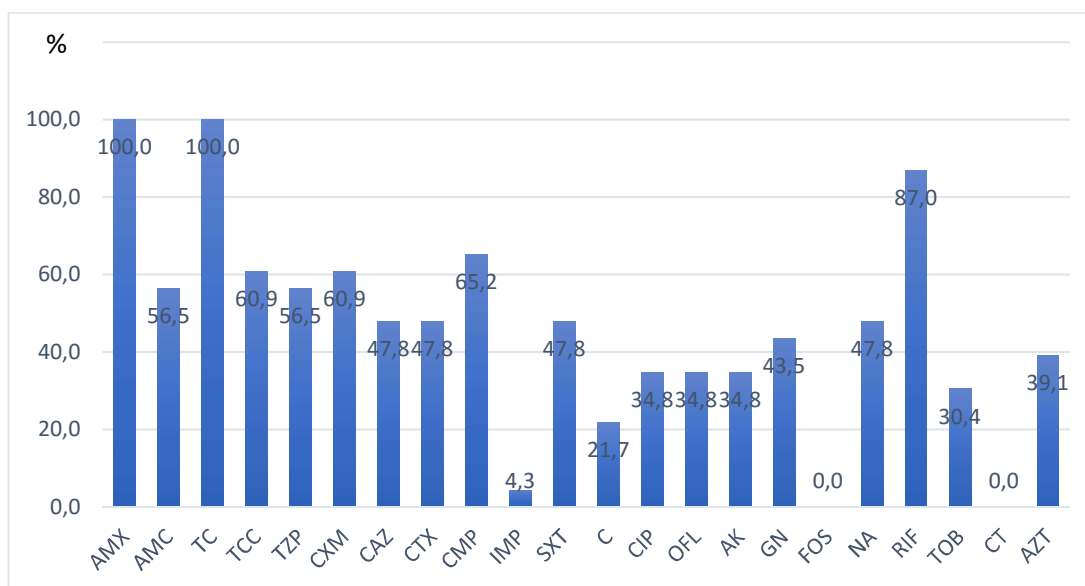


Figure 31 : Taux de résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella* spp.

6.4-Citrobacter spp.

Les isolats appartenant au genre *Citrobacter* spp. étudiés dans ce travail, se sont avérés sensibles à un nombre important d’antibiotique testés ; en revanche, ce genre a été modérément résistant à la céfépime avec un taux de 36,4%. Ce taux augmente à 72,2% pour la rifampicine (figure 32).

Ces résultats sont proches de ceux rapportés par (Maraki et al., 2017) pour des souches cliniques de *Citrobacter* spp. Cependant d’autres études (Xiong et al., 2016; Arana, et al., 2017; Liu et al., 2018) suggèrent que *Citrobacter* spp. est capable d’acquérir des résistances inquiétantes qui peuvent toucher même la colistine (Sennati et al., 2017).

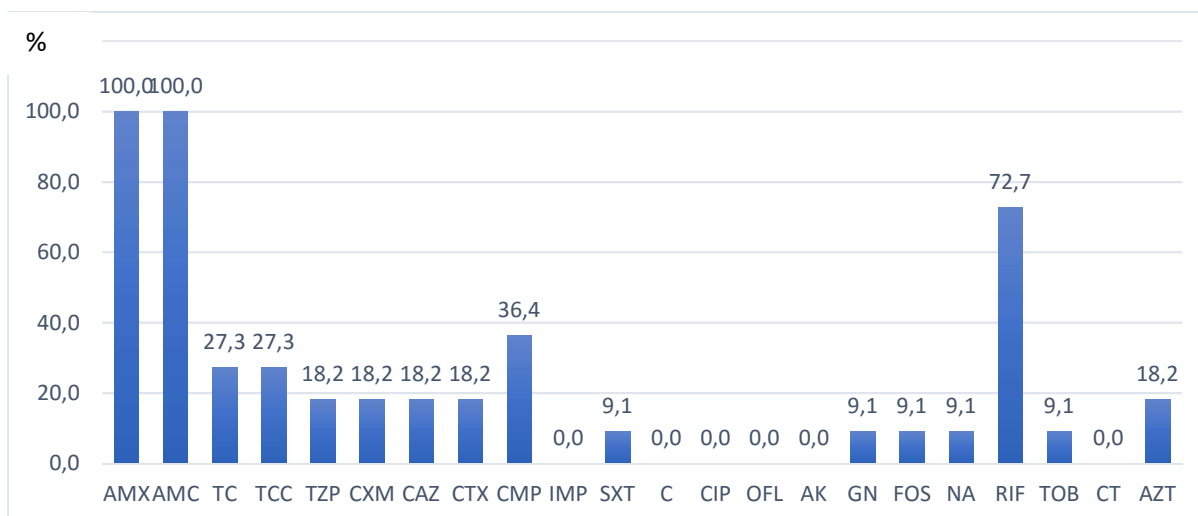


Figure 32 : Taux de résistance aux antibiotiques chez *Citrobacter* spp.

6.5-*Acinetobacter baumannii*

A. baumannii est naturellement résistant à l'értapénème, à la fosfomycine, au chloramphénicol, au triméthoprime, et à la norfloxacine (mais pas à l'acide nalidixique), aux furanes et est peu sensible à l'aztréonam (Mesli, 2014).

Les souches d'*A. baumannii* isolées dans ce travail se sont montrées très résistantes à la plupart des molécules testées sauf la Colistine, à laquelle aucune souche n'a pu résister (figure 33). Avec un taux de sensibilité de l'ordre de 73,9%, l'activité de la Tobramycine semble être intéressante. Nos résultats rejoignent ceux de Zenati et al. (2015) pour les molécules TC, TCC, TZP, CAZ, CIP, CT et semblent être en désaccord pour le taux de résistance à l'IMP qui était de l'ordre de 91% contre 39,1% pour la présente étude.

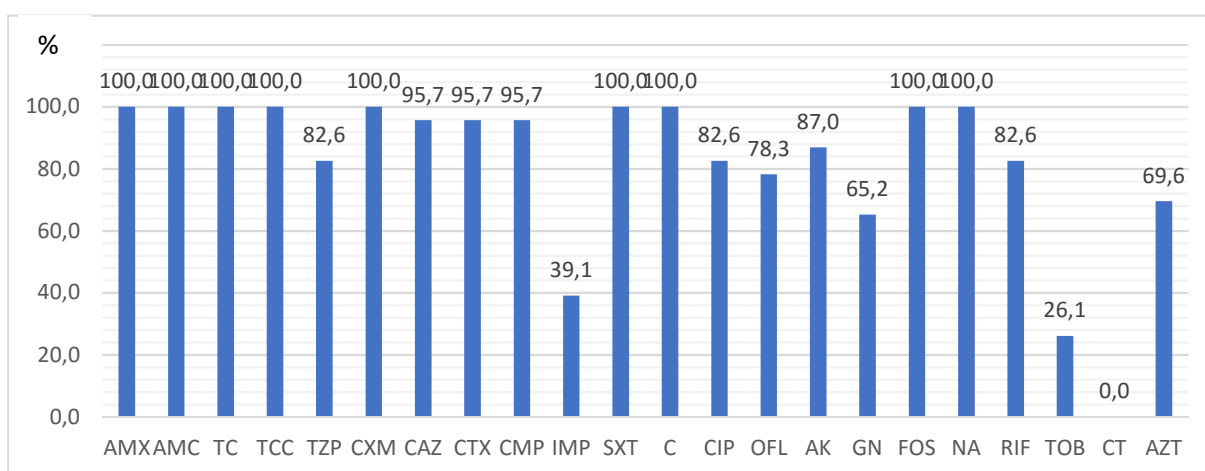


Figure 33 : Taux de résistance aux antibiotiques chez *A. baumannii*.

7-Tolérance aux biocides

Les résultats des CMI (tableau 7) (Figure 34) ont montré que l'activité des biocides diffère selon les molécules testées, ainsi certains biocides se sont distingués par des niveaux de CMI importants allant jusqu'à une valeur de 2048 mg/L pour le TC traduisant à la fois une possible tolérance des souches d'*Enterobacter* testées et une probable inefficacité de ce type de produits. Par ailleurs, d'autres molécules comme la CH se sont caractérisées par une CMI modérée atteignant une valeur de 32 mg/L (61,04% des souches). Nos résultats ont exprimé une fluctuation des CMI de BC allant de 8 mg/L jusqu'à 128 mg/L. Ces résultats ont également révélé un effet souche dans lequel certains isolats se sont avérés tolérants à plusieurs molécules à la fois, ce qui traduit une possible accumulation des mécanismes de résistance.

Tableau 07 : Concentrations minimales inhibitrices des biocides, enregistrées chez les souches d'*Enterobacter* spp.

Identification16S	MIC Biocide mg/L						
	HDP	BC	CF	TC	CT	CH	CF
<i>Enterobacter cancerogenus zb01</i>	32	32	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb01</i>	32	64	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb02</i>	32	32	128	2024	64	8	128
<i>Enterobacter cloacae zb03</i>	32	32	128	2024	32	8	128
<i>Enterobacter cloacae zb04</i>	64	32	128	2024	64	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb05</i>	64	32	128	1024	64	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb06</i>	64	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb07</i>	64	64	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb08</i>	64	64	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb09</i>	32	64	128	2024	64	8	128
<i>Enterobacter cloacae zb10</i>	32	64	128	2024	64	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb11</i>	64	64	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb12</i>	16	32	64	2024	32	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb13</i>	64	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb14</i>	32	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb15</i>	16	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb16</i>	128	16	64	1024	32	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb17</i>	32	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb18</i>	<512	64	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb19</i>	64	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb20</i>	64	32	64	2024	32	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb21</i>	<512	64	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb22</i>	<512	128	64	2024	128	64	64
<i>Enterobacter cloacae zb23</i>	32	128	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb24</i>	64	32	64	1024	32	16	64
<i>Enterobacter cloacae zb25</i>	64	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb26</i>	64	32	128	2024	64	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb27</i>	8	8	128	2024	32	4	128
<i>Enterobacter cloacae zb28</i>	64	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb29</i>	64	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb30</i>	32	32	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb31</i>	64	64	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb32</i>	64	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb33</i>	32	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb34</i>	64	64	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb35</i>	32	32	128	2024	16	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb36</i>	256	64	128	2024	32	8	128
<i>Enterobacter cloacae zb37</i>	32	16	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb38</i>	32	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb39</i>	32	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb40</i>	32	32	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter cloacae zb41</i>	64	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter cloacae zb42</i>	32	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb43</i>	32	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb44</i>	64	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter cloacae zb45</i>	64	32	128	2024	32	32	128

<i>Enterobacter hormaechei</i> zb01	32	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb02	8	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb03	64	32	128	2024	64	64	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb04	64	32	64	2024	32	32	64
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb05	32	64	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb06	64	64	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb07	128	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb08	128	16	64	2024	32	32	64
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb09	32	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb10	128	64	128	2024	64	64	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb11	32	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb12	64	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb13	64	32	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb14	32	16	128	2024	64	16	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb15	128	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb16	64	64	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb17	32	32	64	2024	64	16	64
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb18	64	32	128	2024	32	16	128
<i>Enterobacter hormaechei</i> zb19	32	64	64	2024	64	32	64
<i>Enterobacter sakazakii</i> zb01	32	64	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter</i> sp zb01	<512	64	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter</i> sp zb02	128	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter</i> sp zb03	32	32	128	2024	32	4	128
<i>Enterobacter</i> sp zb04	64	32	64	2024	32	16	64
<i>Enterobacter</i> sp zb05	16	32	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter</i> sp zb06	64	32	128	1024	32	16	128
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb01	64	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb02	64	64	128	2024	32	32	128
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb03	32	32	128	2024	64	8	128
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb04	64	32	128	2024	64	32	128
<i>Enterobacter</i> sp zb07	32	32	128	2024	64	16	128

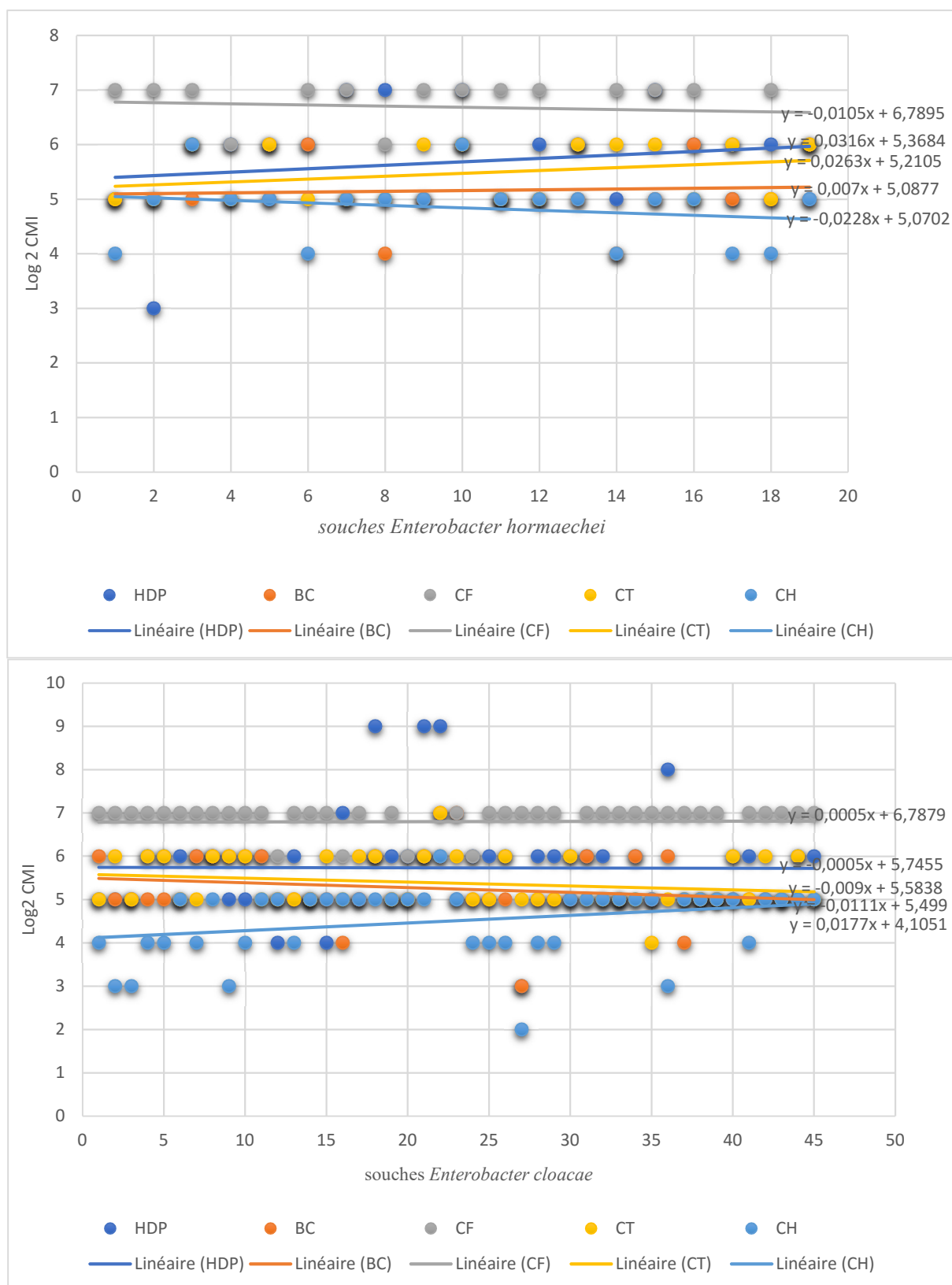
Chlorure de benzalkonium (BC) ; Cétrimide (CT) ; Chlorure d'hexadécylpyridinium (HDP), Hexachlorophène à 99% (CF), le triclosan (TC), et la Chlorhexidine (CH)

Nos résultats semblent être bien supérieurs à ceux signalés par (Morrissey et al., 2014) qui estiment que la valeur seuil de la CMI (epidemiological cut-off « ECOFF ») est égale à 1 mg/L pour le TC. Chez *Enterobacter*, les CMI de tous les composés testés enregistrées par Gadea et al., (2016) ne dépassent pas 200mg/L.

Contrairement aux antibiotiques et devant l'absence d'un consensus sur les valeurs seuils qui permettent la standardisation de l'évaluation de la tolérance aux biocides (Morrissey et al., 2014; Lerma et al., 2015), il est admis par plusieurs auteurs d'utiliser les concentrations ECOFF (Morrissey et al., 2014).

Cette situation pourrait être la résultante de plusieurs facteurs tels que la pression de sélection, des mutants tolérants aux biocides ou la modification de la rigidité de la membrane (Gadea et al., 2017A; Gadea et al., 2017B). Il est à noter aussi que l'exposition récurrente d'une communauté microbienne aux biocides augmente non seulement la sélection des

bactéries résistantes aux biocides mais pourrait aussi contribuer à l'expression et à la dissémination de mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Gadea et al., 2017A**), ce phénomène pourrait être expliqué par la similitude des mécanismes de résistance (**Levy, 2002; Poole, 2002**).



8-Déterminants génétiques de la résistance

L'efflux actif des antibiotiques joue un rôle important dans la résistance (intrinsèque et acquise) au sein du milieu clinique (Li et al., 2015) ; bien que la plupart des mécanismes de résistance aux antibiotiques soient spécifiques et se traduit par une résistance à une seule molécule ou classe d'antimicrobiens, il existe actuellement de nombreux exemples de systèmes d'efflux qui contribuent à la résistance vis-à-vis d'une large gamme d'antimicrobiens structurellement indépendants (antibiotiques et biocides) (Fernández-Fuentes et al., 2014). Dans la présente étude, les résultats de l'amplification des gènes (figure 35) qui codent pour les pompes à efflux ont révélé la présence du gène *mdfA* chez 10,9% des souches et du gène *oqxA* chez 6,3% des souches. Par ailleurs, parmi les gènes spécialement impliqués dans la tolérance aux biocides, *qacA1*, *qac H* et *qacA/B* ont été détectés respectivement à des taux de 11,69% de 1,30% et de 2,3%. Des auteurs ont rapporté que la présence des gènes de types *qac* chez les bacilles à Gram négatif est dans certains cas liée à des CMI élevées de biocides dont les ammoniums quaternaires (Jaglic et Cervinkova, 2012; Jennings et al., 2015; Fernández Márquez et al., 2017), mais peut être aussi associée à la résistance à certains antibiotiques comme les quinolones (Buffet-bataillon et al., 2016).

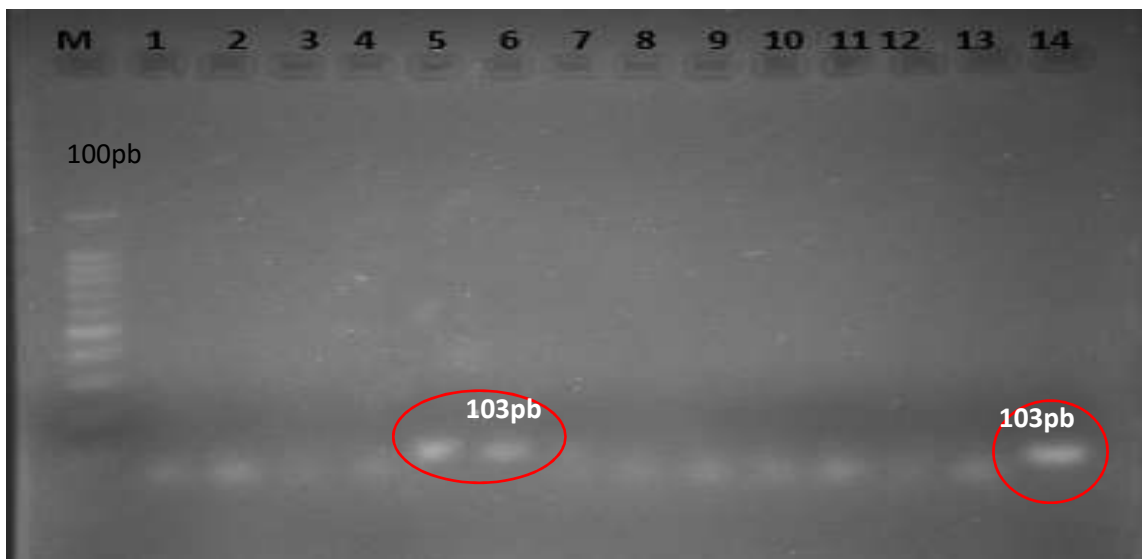


Figure 35 : Détection du gène *mdfA* (103pb)

M : marqueur 100pb, 1: *A.baumannii* zb08, 2: *A.baumannii* zb09 3: *A.baumannii* zb10 ,4: *A.baumannii* zb 11,5: *A.baumannii* zb12 ,6: *E.coli* zb01 ,7: *E.coli* zb03 ,8: *E.coli* zb04 , 9: *E.coli* zb06 ,10: *E.coli* zb07 , 11: *E.coli* zb08 ,12: *E.coli* zb09 ,13: *E.coli* zb10 ,14: *E.coli* zb02 .

Cependant **Kückenet *al.*, (2000)** ont fourni des preuves que la présence du gène *qacE* $\Delta 1$ n'est pas obligatoirement associée à l'augmentation des valeurs de CMI du chlorure de benzalkonium.

Nos résultats ont révélé 19,4% des souches porteuses du gène *int1* qui code pour l'intégrase et marqueur de la présence de l'intégrons de classe 1. Ces derniers jouent un rôle central dans la résistance aux antibiotiques des micro-organismes et contribuent à une large diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif, ainsi qu'à l'évolution et à l'adaptation bactérienne (Chuanchuen et *al.*, 2006; Deng et *al.*, 2015). Néanmoins, seulement 2,3% ont été *qacA1F/sul1R* positif (figure 36).

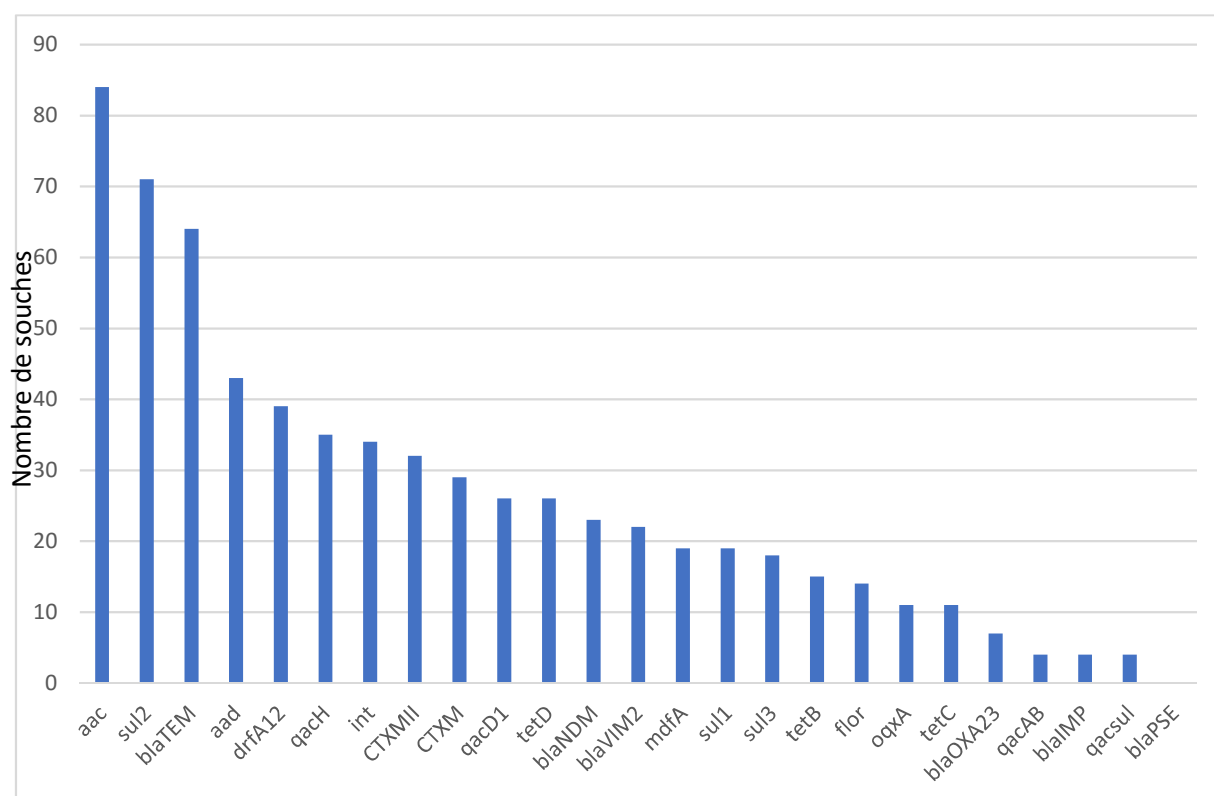


Figure 36 : Fréquence de la détection des gènes étudiés

Les gènes impliqués dans la résistance aux β -lactamines par la production de β -lactamases à spectre élargi *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} et *bla*_{CTX-M-2} ont été détectés respectivement chez 36,6%, 16,6% et 18,3% des souches testées (figure 37), ce qui probablement peut expliquer certaines résistances aux β -lactamines détectées dans la présente étude. En revanche le gène *bla*_{PSE} a été totalement absent chez l'ensemble des isolats testés.

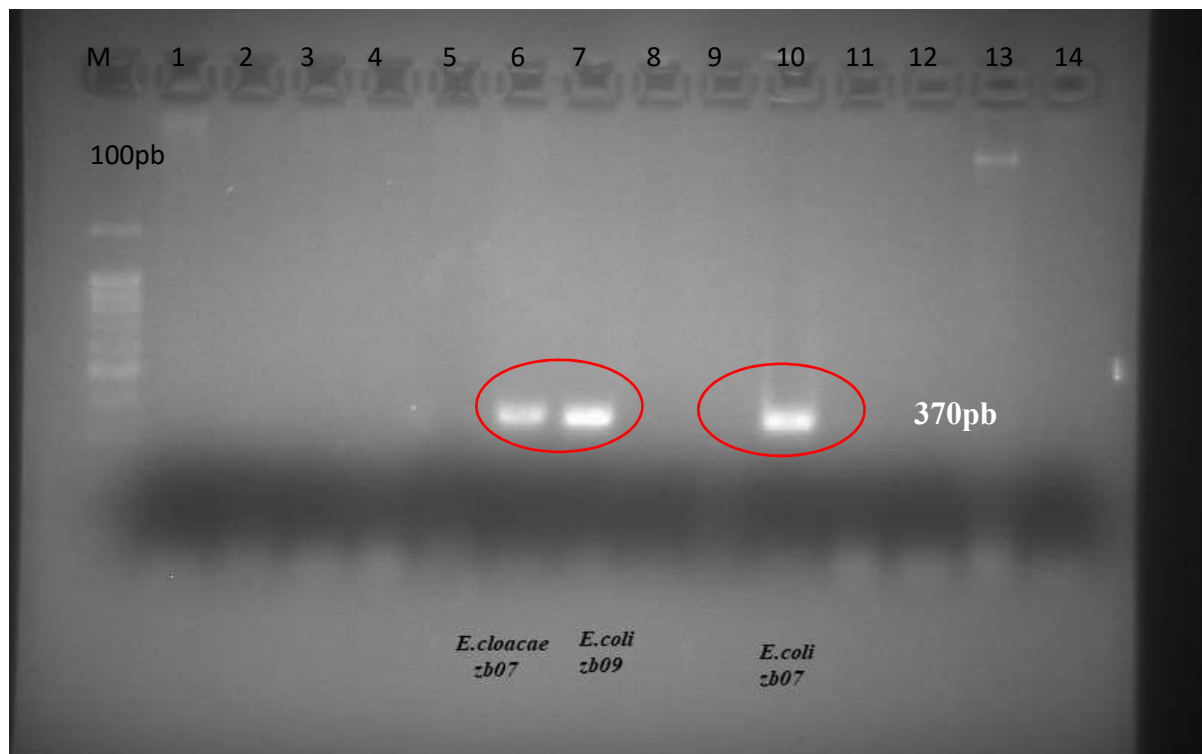


Figure 37 : Détection du gène *qacΔ1* (370pb)

M : marqueur 100pb, 1: *A.baumannii* zb01 , 2: *A.baumannii* zb02 3: *A.baumannii* zb03 ,4: *C.freundii* zb01 ,5: *E.cloacae* zb07 ,7: *E.coli* zb09,8: *E.coli* zb10 , 9: *E.coli* zb11 ,10: *E.coli* zb 07 , 11: *K.oxytoca* zb01, 12: *K.oxytoca* zb02 ,13: *K. pneumoniae* zb01 ,14: *K. pneumoniae* zb02.

En Algérie, la présence des gènes de type *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ainsi que *bla*_{HSV} a été constatée chez des souches d'entérobactéries provenant de patients hospitalisés dans différents services à l'hôpital de Laghouat (**Lagha et al., 2016**), ainsi qu'au CHU d'Annaba (**Nedjai et al., 2012**). Il est à signaler que les différents types de BLSE (CTX-M-1, TEM et SHV), retrouvés dans notre étude, font partie des BLSE dites transférables, ce qui explique la facilité du transfert entre les entérobactéries (**Philippon, 2013**).

Les résultats de la présente étude ont également montré la présence de gènes responsables de la production de Métallo-β-lactamases, ainsi les gènes *bla*_{NDM-1} et *bla*_{VIM-2} ont été retrouvés respectivement chez 13,1% et 12,6% des isolats testés, ce pourcentage diminue pour les gènes, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-23} atteignant respectivement 2,3% et 4% (figure 38). **Mathlouthi et al., (2016)** ont signalé la dissémination des gènes de résistance aux carbapénèmes chez les différentes espèces de bacilles à Gram négatif et à travers la plupart des pays du bassin méditerranéen, ce qui a été confirmé en Algérie par **Touati et al., (2019)**.

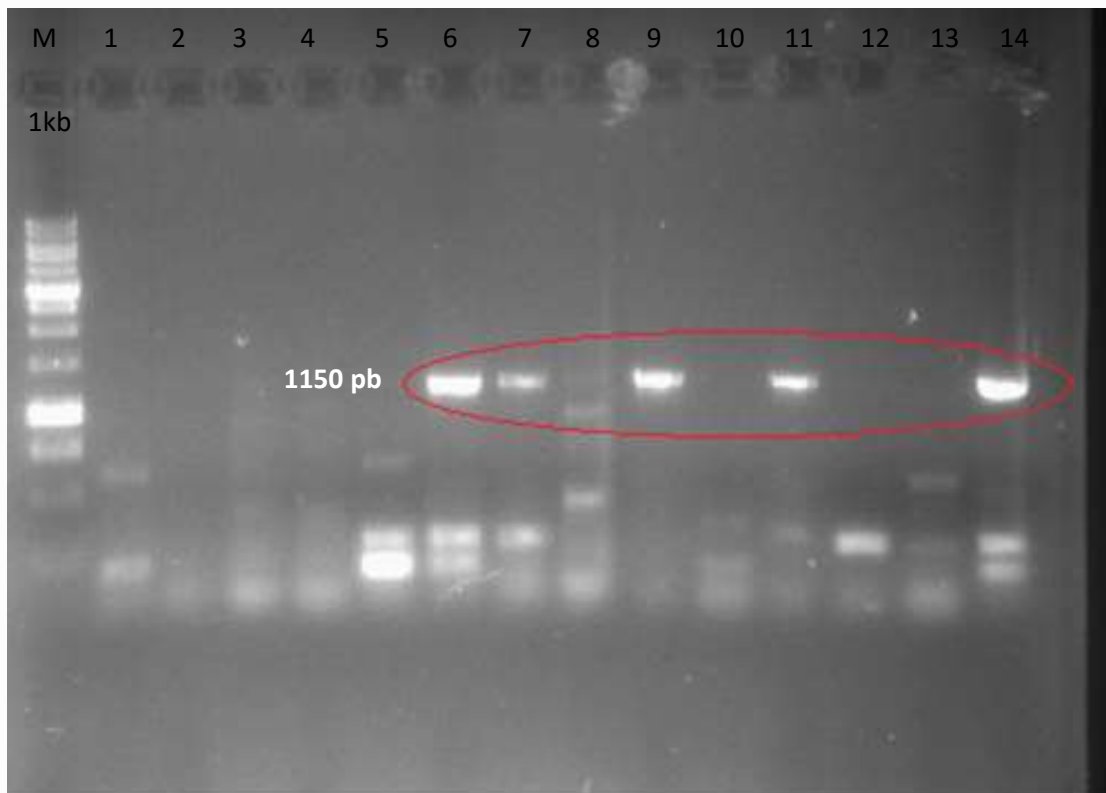


Figure 38 : Détection du gène *bla*_{TEM} (1150pb)

M : marqueur 1000 pb, 1: *A.baumannii* zb02 , 2: *A.baumannii* zb03 3: *A.baumannii* zb04 ,4: *A.baumannii* zb05 ,5: *A.baumannii* zb06 ,6: *E.cloacae* zb01 ,7: *E.cloacae* zb02 ,8: *E.cloacae* zb03 , 9: *E.cloacae* zb07 ,10: *K.oxytoca* zb01 , 11: *E.coli* zb01 ,12: *E.coli* zb 03 ,13: *E.coli* o4 ,14: *E.coli* zb07.

Il existe 43 différents gènes associés *tet/otr* de résistance aux tétracyclines, et ils confèrent aux bactéries une résistance par l'expression de plusieurs mécanismes dont l'efflux actif, la protection ribosomale et la résistance enzymatique (Roberts, 2011).

Parmi les gènes recherchés dans ce travail, *tet(B)*, *tet(C)* et *tet(D)* ont été retrouvés avec des taux de 8,6%, 6,3% et 14,9%. Le gène *tet (B)* est le gène d'efflux le plus communément identifié chez les bactéries à Gram négatif, sa présence intervient aussi dans la résistance à la tétracycline, la doxycycline et à la minocycline.(Roberts, 2011).

Contrairement aux gènes *sul1* et *sul3*, qui ont été présents avec de faibles fréquences (10,9%, 10,3), 50,65% des souches portent le gène *sul2*. Ces gènes ont été détectés chez *E. coli* par plusieurs auteurs (Vinué et al., 2010 ; Rebbah, et al., 2017). Il est à noter que le pourcentage de détection du gène *sul1* est proche de celui du *qacA1*, ces deux gènes sont en général liés physiquement et portés sur le même support génétique (intégron de classe 1) (Deng et al., 2015; Fernández Márquez et al., 2017). Idem pour le gène *dfrA12* qui a été présent

chez 23,3% des isolats. Le gène *dfrA15* a été totalement absent chez l'ensemble des isolats testés.

Sur l'ensemble des gènes recherchés, le gène *aac (6') Ib*, a été le plus prédominant, ce dernier impliqué dans la résistance aux aminoglycosides a été retrouvé chez 48% des isolats testés. Parmi les enzymes modifiant les aminoglycosides, l'AAC [6']-Ib est probablement la plus importante acétyltransférase sur le plan clinique. Elle est responsable de la résistance à l'amikacine chez des bacille à Gram négatif appartenant au genre *Acinetobacter* et aux familles des *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae* et *Vibrionaceae* (Kazi-Tani et Arlet, 2014). Des études ont pu caractériser le gène *aac(6')-Ib* chez des souches cliniques d'entérobactéries sur des plasmides associés à des gènes codant pour certains types de bêta-lactamases (Meradi et al., 2011; Kazi-Tani et al., 2013; Kazi-Tani et Arlet, 2014).

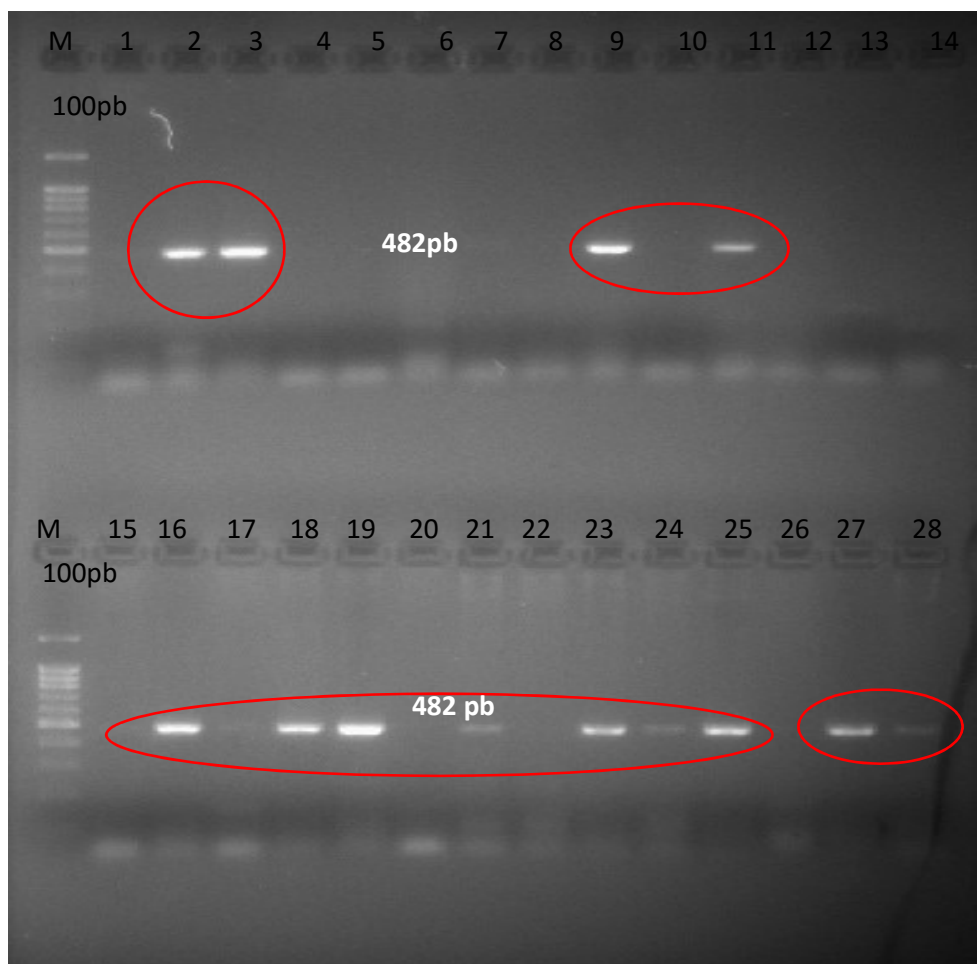


Figure 39 : Détection du gène *aac (6') Ib* (482bp).

M : marqueur 100 pb, 1: *A.baumannii* zb05 , 2: *A.baumannii* zb06 3: *A.baumannii* zb08,4: *A.baumannii* zb09 ,5: *A.baumannii* zb10,6: *A.baumannii* zb13,7: *A.baumannii* zb15 ,8: *A.baumannii* zb16, 9: *C.freundii* zb01 ,10: *C.freundii* zb02, 11: *C.freundii* zb05 ,12: *C.freundii* zb06,13: *C.freundii* zb07,14: *C.freundii* zb08 , 15: *E. cloacae* zb18 , 16: *E. cloacae* zb19 ,17: *E. cloacae* zb19, 18: *E. cloacae* zb20,19: *E. cloacae* zb21, 20: *E. cloacae* zb22, 21: *E. cloacae* zb23 , 22: *E. cloacae* zb24 ,23: *E. cloacae* zb25, 24 *K. pneumoniae* zb13 ,25: *K.pneumoniae* zb14, 26: *K.pneumoniae* zb17,27: *K.pneumoniae* zb18 ,28: *K.oxytoca* zb01.

Le gène *aadA* (Figure 40) responsable de la résistance à la streptomycine a été détecté avec un taux moins important que celui de *aac (6') Ib* (Figure 39). Ce taux diminue pour atteindre 24,6%. Quant au gène *flor* support de la résistance vis-à-vis des pénicolines, il a été mis en évidence chez 8 % des souches. Ce gène code pour un système d'efflux spécifique à plusieurs genres bactériens dont *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Mannheimia*, *Pasteurella*, *Photobacterium*, *Providencia*, *Riemerella*, *Salmonella* et *Vibrio* (Roberts et Schwarz, 2017).

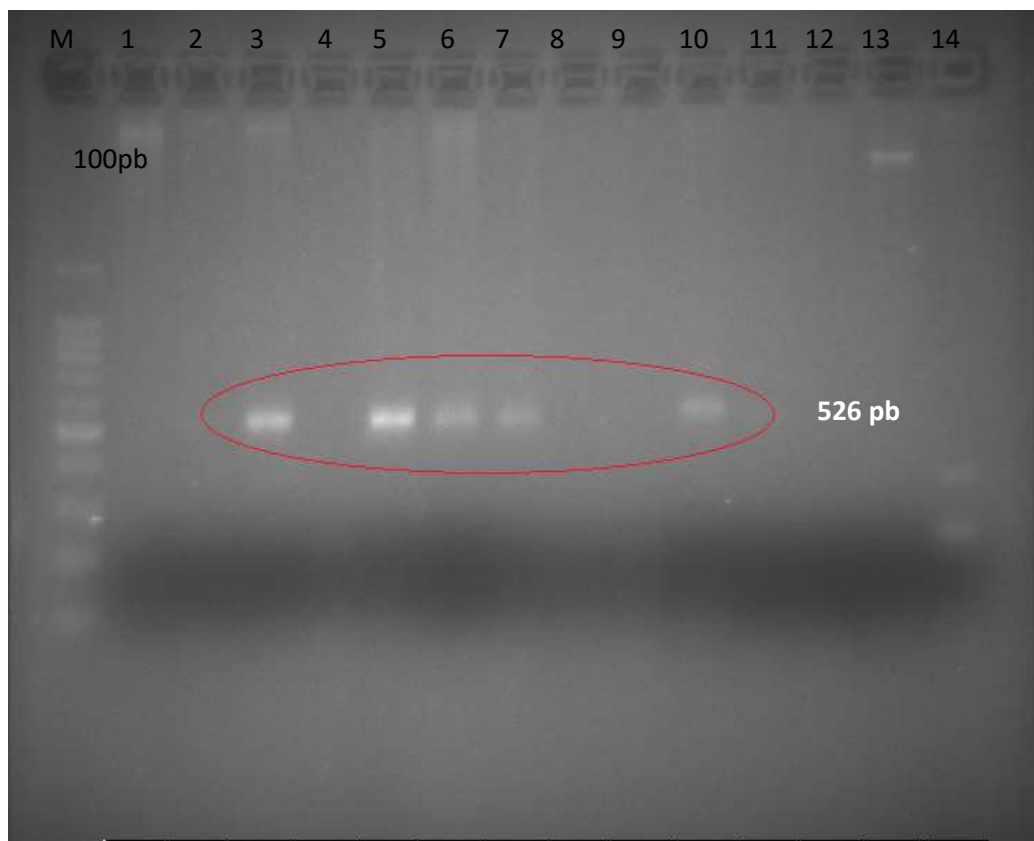


Figure 40 : Détection du gène *aadA*(526pb)

M : marqueur 1000 pb, 1:*E.coli* zb02, 2: *E.coli* zb03 3: *E.coli* zb04 ,4: *E.coli* zb05 ,5: *Enterobacter* spp zb01,6: *Enterobacter* spp zb04 ,7: *Enterobacter* spp zb05 ,8: *Pantoea* sp zb01 , 9: *P. aeruginosa* zb01,10: *P. aeruginosa* zb02, 11: *P. aeruginosa* zb03, 12: *P. aeruginosa* zb04 ,13: *P. aeruginosa* zb05, 14: *P. aeruginosa* zb06.

La présence d'une telle mosaïque de gènes a permis à certaines souches d'héberger simultanément plusieurs gènes de résistance allant jusqu'à dix gènes pour *A. baumannii* zbo4, zb11, *K.pneumoniae* zb10 et *E.coli* zb04.

8.1- Répartition des gènes détectés en fonction du genre bactérien

8.1.1-*Enterobacter* spp.

Enterobacter est parmi les genres d'Entérobactéries les plus importants dans le milieu clinique, il est capable d'acquérir des résistances endogènes ou exogènes (Sanders et Sanders 1997). Il a été rapporté que les souches appartenant aux espèces *E. aerogenes* et *E. cloacae* peuvent héberger les gènes qui codent pour les pompes à efflux de type *mdfA* et *oqxA* (Veleba et al., 2013; Davin-Regli et Pagès 2015). Les résultats de la présente étude ont révélé leur présence respectivement avec des taux de 6,49% et 3,90% (Figure 41). D'autre part, les gènes qui codent pour les pompes à efflux qui interviennent dans l'expulsion des composés QACs, seul *qacA1* et le *qac H* ont été détectés respectivement avec des fréquences de l'ordre de 11,69% et de 1,30%. La présence de ce type de gène chez *E. cloacae* a été signalée, cette présence pour le gène *qacA1* est dans certains cas associée à d'autres gènes de résistance dont *mdfA*, *tet(A)* (Fernández Márquez et al., 2017) *dfrA12*, *dfrA15* et *aadA*, *aac(6')Ib* (Wu et al., 2012). Ces deux derniers qui interviennent dans la résistance enzymatique vis-à-vis des aminosides ont été présents respectivement chez 29,87% et 58,44 des *Enterobacter* testés.

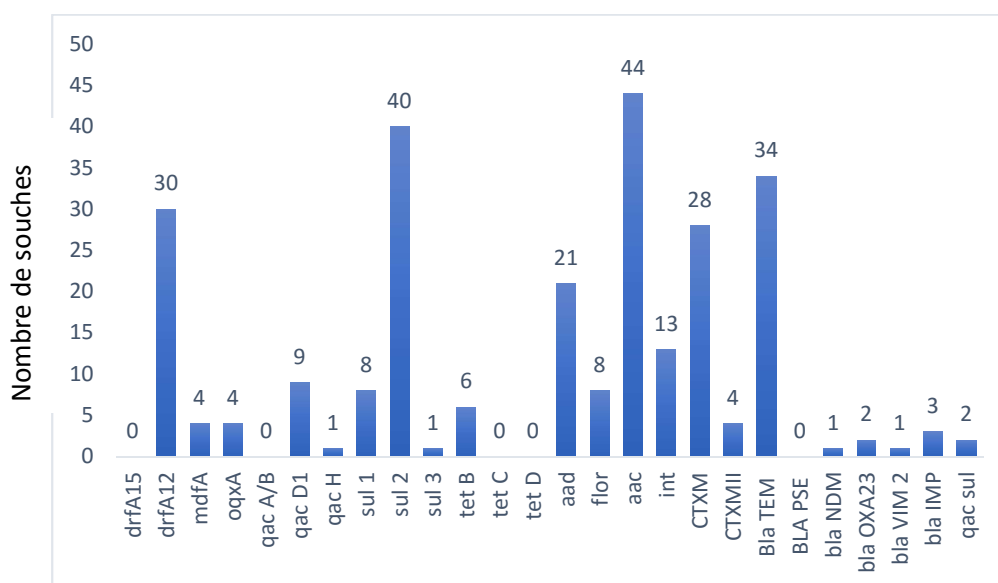


Figure 41 : Fréquence de la détection des gènes étudiés chez *Enterobacter* spp.

La présence à la fois de plusieurs gènes de résistance à l'origine des mécanismes d'efflux actif a été le cas d'une souche d'*Enterobacter sakazakii* zb01, qui a pu héberger à la fois le gène *qacA1* ; *mdfA* et *qac H*. Ce dernier n'a été détecté que chez cette souche.

Sur l'ensemble des gènes recherchés, le gène *qac A/B* n'a pas été détecté chez les souches d'*Enterobacter* testées. L'amplification avec les amorces *qacΔIF* et *sul1R* a donné un résultat positif chez deux souches. Aussi, 16,88% des souches se sont avérées porteuses du gène *int1* qui code pour l'intégrase, néanmoins, aucune d'entre elles n'a été *qacΔIF/sul1R* positif. Il en est de même pour les souches hébergeant *qacΔIF/sul1R* et dépourvues du gène *int1*. **Rizk et El-mahdy (2017)** ont rapporté la présence de l'intégrons de classe 1 chez 42% des *Enterobacter* spp. testées.

Toutes les classes de Béta-lactamases d'Ambler peuvent être retrouvées chez les souches d'*Enterobacter* spp : classe A (pénicillinasés, BLSE et carbapénémases), classe B (métaallo-enzymes), classe C (céphalosporinasés) et classe D (oxacillinasés) (**Guérin, 2015**). Dans la présente étude, les gènes qui codent pour la production de β-lactamases à spectre élargi *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} et *bla*_{CTX-M-2} ont été détectés respectivement chez 44,16%, 35,06% et 5,19% des souches. Deux souches (*zb 11* et *zb13*) seulement ont été porteuses conjointement de ces trois gènes. En revanche le gène *bla*_{PSE} a été totalement absent chez l'ensemble des isolats testés.

Les résultats ont également montré la présence de gènes responsables de la production de Métaallo-β-lactamases, ainsi le gène *bla*_{VIM-2} a été retrouvé chez 41,56%. Ce pourcentage diminue pour les gènes *bla*_{NDM-1}, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-23} atteignant respectivement 6,49%, 6,49%, 2,60%. D'autres auteurs ont décrit la résistance aux bêta-lactamines par production de différentes classes de bêta-lactamases chez les espèces *E. cloacae* et *E. hormaechei* (**Ho et al., 2005; Szabo et al., 2005; Falcone et al., 2009; Bogaerts et al., 2011; Guillard et al., 2015; Boyd et al., 2017; Andrade et al., 2018; Jin et al., 2018**).

Les gènes associés à la résistance aux tétracyclines testés, *tet(B)* et *tet(D)* ont été également retrouvés avec des fréquences de 7,79% et 1,30%. Il est à noter que le gène *tet(B)* n'a été présent chez aucune des souches testées, contrairement aux gènes *sul1* et *sul3* qui ont été présents avec des fréquences plus faibles (11,69%, 1,30%). Quant au gène *flor*, support de la résistance aux pénicillines, il a été mis en évidence chez 10,39% des souches.

8.1.2-Klebsiella spp.

Parmi l'ensemble des gènes recherchés chez les souches de *Klebsiella* isolées dans cette étude (Figure 42), les gènes *dfrA15*, *dfrA 12*, *qacΔI*, *sul3 tet(B)*, *tet(C)*, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{PSE}, *bla*_{OXA-23} et *bla*_{IMP} n'ont pas été détectés, contrairement au gène *Int1* qui a été retrouvé chez 39% des souches.

Le segment conservé de l'intégron de classe 1 *qacA1/sul1* n'a été révélé chez aucun des isolats de *Klebsiella* spp. En revanche, sa présence a été rapportée par (Yousfi et al., 2019) chez *K. oxytoca* d'origine hospitalière isolée des hôpitaux de l'Est algérien (Bejaia et Tizi Ouzou). Ces souches hébergent aussi les gènes *bla_{CTX-M1}*, et *bla_{OXA-23}*, en plus d'autres gènes de résistance.

Les pompes à efflux *mdfA*, *oqxA*, *qacA/B* ont été détectées respectivement avec des taux de 4,35%, 17,39% et 8,70 % ; ce taux augmente pour atteindre 56% pour *qacH*. Bialek-davenet et al., (2015) ont montré que la surexpression du gène *oqxA* était responsable du phénotype de multirésistance et de l'augmentation du potentiel de virulence des isolats clinique de *K. pneumoniae*.

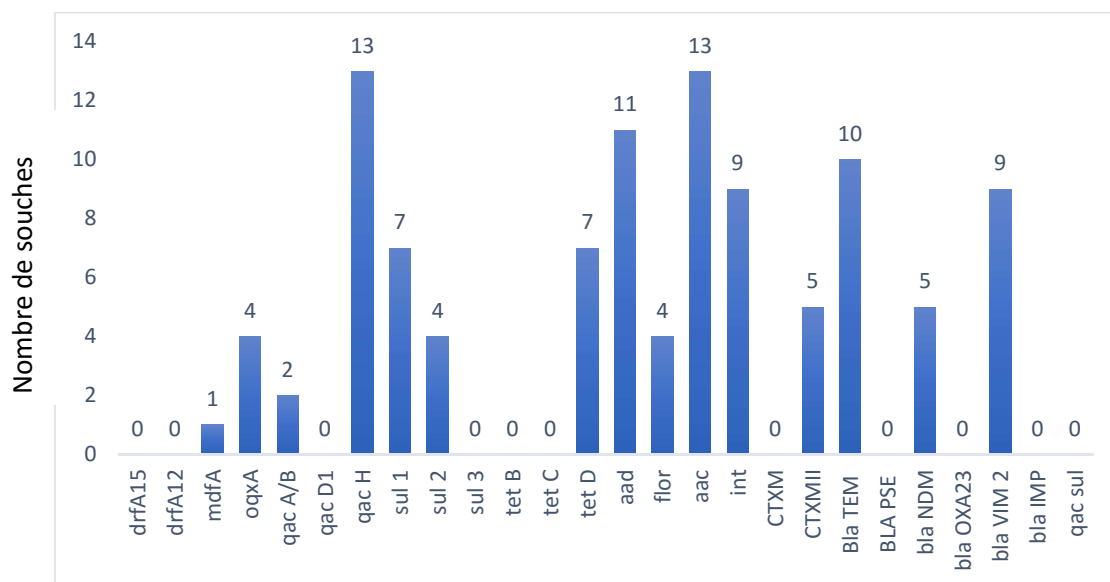


Figure 42 : Fréquence de la détection des gènes chez *Klebsiella* spp

Dans la présente étude, les marqueurs de la résistance aux bêta-lactamines, *bla_{CTX-M2}*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM2}* ont été positifs respectivement pour 22%, 43%, 22% et 39% des isolats de *Klebsiella* spp. En conséquence, la souche *K. pneumoniae* zb02 a pu loger les quatre gènes à la fois.

En Algérie, Zenati et al., (2017) ont révélé la colonisation des surfaces de l'environnement hospitalier par les souches de *K. pneumoniae* hébergeant différents gènes impliqués dans la résistance. Touati et al., (2010) ont aussi rapporté la colonisation de l'environnement hospitalier par des souches résistantes, à la fois aux bêta-lactamines et aux métaux lourds.

8.1.3-*Acinetobacter baumannii* (Figure 43)

Zenati et al., (2015) ont démontré que les surfaces inanimées de l'environnement hospitalier peuvent être une source potentielle de la dissémination des gènes de résistance au sein d'une population d'*A. baumannii*. Dans le présent travail, les souches étudiées ont pu héberger au moins un des gènes recherchés, encore les souches d'*A. baumannii* *zb04* et *zb11* ont été positives pour dix gènes.

La recherche moléculaire de la résistance aux bêta-lactamines a démontré la présence des gènes *bla_{CTX-M 2}*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{OXA-23}*, et *bla_{VIM-2}* avec les taux respectifs de 26,1%, 26,1%, 69,6%, 21,7% et 30,4%. La présence des gènes *bla_{NDM-1}*, *bla_{OXA-23}* chez des souches cliniques isolées des surfaces inanimées avec des taux de 47,76% et 43,28% a été rapportée (**Zenati et al., 2015; Liu et al., 2017**).

Mesli et al., (2013) ont également signalé 05 souches porteuses du gène *bla_{NDM-1}*, en plus de la présence du gène *bla_{OXA-23}* chez 35,4 % des isolats d'*Acinetobacter* provenant du CHU de Tlemcen. Des souches portant le gène *bla_{VIM-2}* ont été signalées par d'autres études (**Yum et al., 2002; Lee et al., 2007**). Nos résultats suggèrent que le gène *bla_{NDM-1}* est le prédominant parmi les gènes impliqués dans la résistance aux carbapénèmes, contrairement à ce qui a été rapporté par (**Mugnier et al., 2010; Liu et al., 2017**) où le gène prédominant était *bla_{OXA-23}*.

Pour les marqueurs de la résistance aux sulfamides, *sul1*, *sul2* et *sul3* ont été détectés respectivement chez 13%, 39, 1% et 73,9 % des isolats testés, par conséquent, la souche *A. baumannii* *zb04* était simultanément positive pour les trois gènes ; ce qui est cohérent avec son phénotype de résistance vis-à-vis de l'association SXT.

Concernant la résistance aux aminosides des *Acinetobacter* dans l'ouest Algérien, il a été rapporté qu'elle est liée en partie à l'expression des gènes *aadA* et *aac(6')-Ib* (**Mesli et al., 2013**). La recherche de ces deux derniers gènes a révélé leur présence dans respectivement 17,4% et 56,5% de isolats d'*A. baumannii* étudiés dans ce travail.

Nos résultats ont montré que l'amplification des gènes associés à la tolérance aux biocides a été positive pour *qacA/B* (4,3) et *qacΔ1* (17,4%) et négative pour *qacH*.

En Iran, la présence de *qacΔ1* a été rapportée chez *A. baumannii* (**Mahzounieh et al., 2014**). **Liu et al., (2017)** ont aussi détecté en chine le même gène chez des *A. baumannii* isolé de l'environnement hospitalier. De plus le gène *qac A/B* était retrouvé dans 13,72% de leurs isolats où la présence de ces gènes a été associée à celle des gènes de résistance aux bêta-lactamines,

ce qui concorde avec notre étude, pour certaines souches dont *A. baumannii* zbl1 qui a hébergé à la fois les gènes *qacA1*, *qac A/B*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM}*, et *bla_{OXA-23}*.

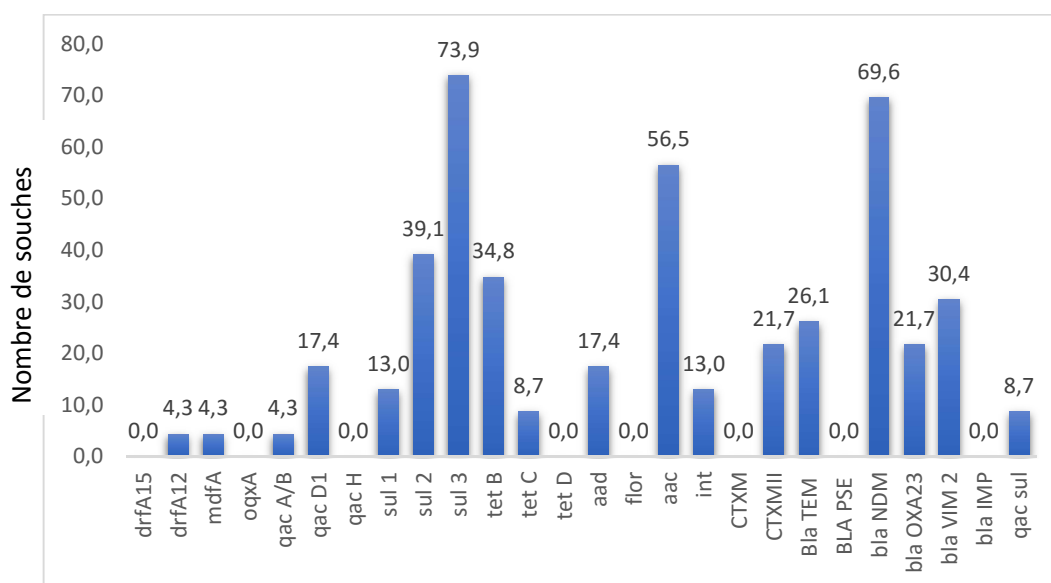


Figure 43 : Taux de la détection des gènes étudiés chez *A.baumannii*

8-Corrélation entre la présence des différents gènes de résistance.

Plusieurs études ont rapporté des résistances croisées et des résistances associées entre les différentes familles d'antibiotiques (Courvalin, 2008 ; Carle, 2009). Par ailleurs, d'autres auteurs ont suggéré que les bactéries à Gram négatif qui ont développé une résistance à certains composés biocides peuvent également être insensibles à certains antibiotiques (Russell, 2000). Ce phénomène pourrait être expliqué par l'existence de plusieurs similitudes entre les mécanismes de résistance aux biocides et aux antibiotiques (Levy, 2002; Poole, 2002), dont les systèmes à efflux non spécifiques (Fernández-Fuentes, et al., 2014).

Dans la présente étude, la matrice de corrélation (tableau 08) entre la présence de différents gènes de résistance a montré une faible corrélation négative entre les deux gènes de tolérance aux biocides *qacA1* et *qacH*. Par ailleurs elle a été faiblement positive entre les deux gènes et le *qacA/B*. Cette corrélation a été plus importante entre le gène responsable du mécanisme d'efflux actif non spécifique *mdfA* et le gène *qacH*. Liu et al., (2017) ont détecté la présence concomitante des *qacA1* et *qacA/B* chez 14% des souches d'*A. baumannii* testés. Par ailleurs, dans la collection étudiée par Vali et al., (2008), aucune souche n'a pu héberger les deux gènes *qacH* et *qacA/B* simultanément.

Quant au gène *oqxA*, qui est en corrélation négative avec *mdfA*, *qacH* et *qacA/B*, il est faiblement positif avec *qacH*.

Chez les bacilles à Gram négatif, les gènes *qac* ont été fréquemment observés en association avec des gènes codant pour la résistance aux bêta-lactamines (y compris les carbapénèmes), aux aminosides, au triméthoprime, aux sulfonamides et aux chloramphénicol (Moreno *et al.*, 2006 ; Zhao *et al.*, 2012; Gooma *et al.*, 2017; Kadry *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017; Rebbah, 2017).

Les résultats de la présente étude ont révélé une possible corrélation entre la présence des gènes de tolérance aux biocides et celle des gènes de résistance aux antibiotiques, cette corrélation a été qualifiée de faible voire négative dans certains cas entre les gènes *qac* et les gènes *bla* et faiblement positive entre le gène *qacA/B* et les gènes *sul2*, *sul3*, *tet(B)*, *tet(D)* *aadA* et *drfA12*, idem pour le gène *qacH* et les gènes *sul1*, *tet(C)*, *tet(D)*, *aadA*, *flor* et *mdfA*.

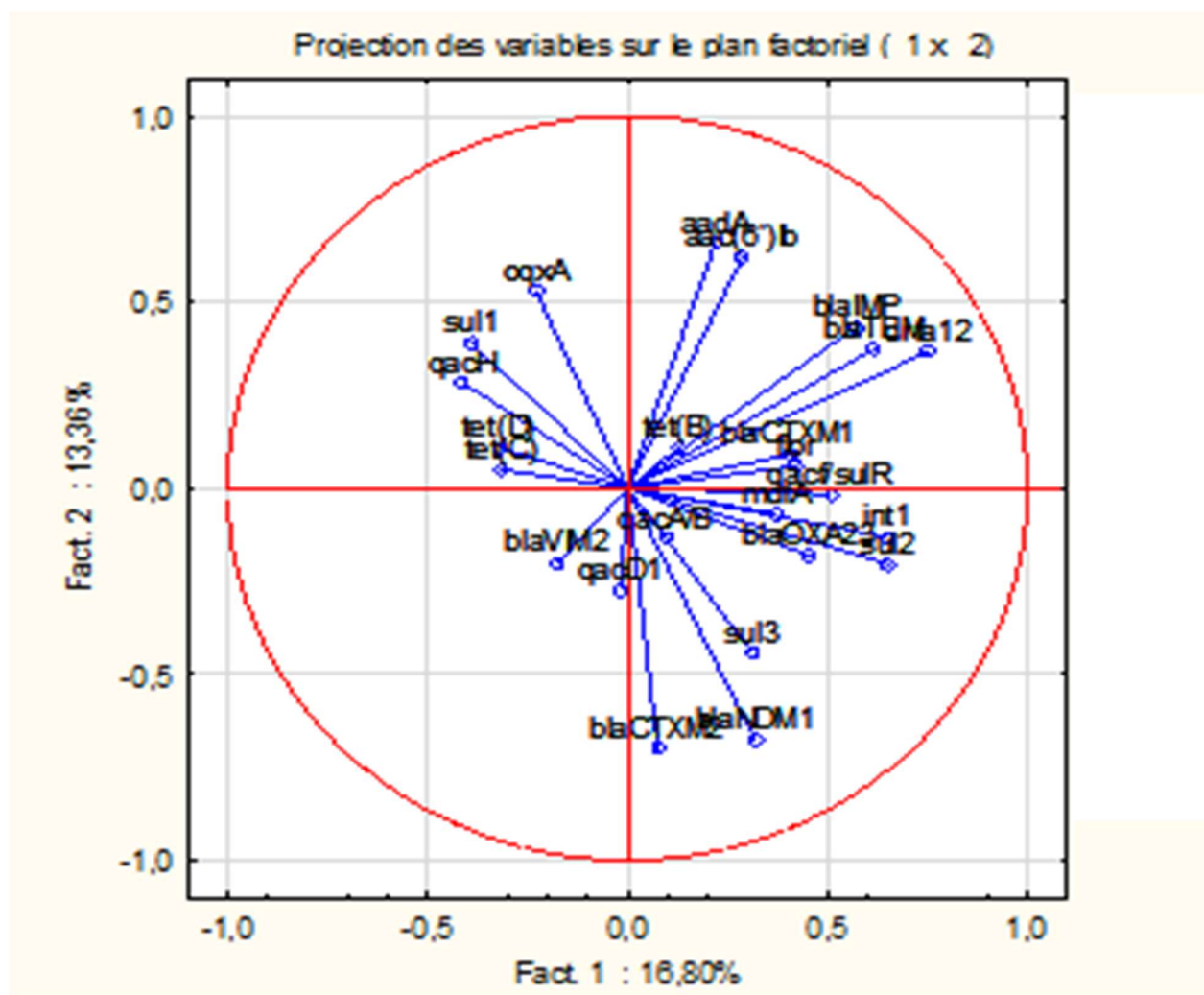


Figure 44 : Analyse de la composante principale des différents gènes détectés chez *Enterobacter* spp

La présence du gène *qacA1* a été positivement associée à celle des gènes codants pour la résistance aux sulfamides et les gènes impliqués dans la résistance aux tétracyclines en plus des gènes *aadA* et *mdfA*, ceci peut être expliqué par le fait que tous ces gènes peuvent se retrouver en forme de cassette dans l'intégron de classe 1 (**Antunes et al., 2005; Fernandez-Cuenca et al., 2015; Makowska et al., 2016**).

Nos résultats ont aussi montré une probable corrélation entre certains gènes de résistance aux antibiotiques, ceci a été prouvé par plusieurs études précédentes (**Moreno et al., 2006; Zhao et al., 2012; Yousfi et al., 2019**).

Tableau 08 : corrélation entre les gènes de résistance détectés

	<i>blaCTXM</i>	<i>blaCTXMII</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaOXA23</i>	<i>blaNDM</i>	<i>blaIMP</i>	<i>blaVIM2</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>sul3</i>	<i>tet(B)</i>	<i>tet(C)</i>	<i>tet(D)</i>	<i>aadA</i>	<i>aac(6')-Ib</i>	<i>floR</i>	<i>drfA12</i>	<i>mdfA</i>	<i>oqxA</i>	<i>qacA/B</i>	<i>qacEΔ1</i>	<i>qacH</i>	<i>qacEF/sulR</i>	<i>intl1</i>	
<i>blaCTXM</i>	1																								
<i>blaCTXMII</i>	-0,092	1																							
<i>blaTEM</i>	0,268	0,101	1																						
<i>blaOXA23</i>	-0,013	0,13	0,027	1																					
<i>blaNDM</i>	-0,173	0,21	0,056	0,438	1																				
<i>blaIMP</i>	0,138	0,027	-0,037	-0,031	-0,059	1																			
<i>blaVIM2</i>	-0,169	0,267	0,106	0,099	0,312	-0,058	1																		
<i>sul1</i>	-0,106	0,072	0,116	-0,071	0,299	0,07	0,2	1																	
<i>sul2</i>	0,289	0,121	0,436	0,188	0,023	0,107	-0,068	-0,064	1																
<i>sul3</i>	-0,151	0,083	-0,023	0,315	0,481	-0,052	0,212	0,003	0,027	1															
<i>tet(B)</i>	0,028	0,066	0,064	0,563	0,425	-0,047	0,13	0,09	0,287	0,3	1														
<i>tet(C)</i>	-0,115	-0,001	-0,099	-0,053	-0,031	-0,04	0,044	0,061	-0,166	-0,01	-0,079	1													
<i>tet(D)</i>	-0,143	0,093	0,116	-0,085	-0,02	0,044	0,035	0,112	0,015	-0,141	-0,128	0,223	1												
<i>aadA</i>	0,21	0,039	0,256	0,087	0,053	0,179	0,064	0,142	-0,012	-0,018	0,015	-0,093	0,135	1											
<i>aac(6')-Ib</i>	0,218	-0,011	0,339	-0,021	0,168	0,006	0,119	0,106	0,161	0,014	0,033	-0,06	0,017	0,222	1										
<i>floR</i>	-0,131	-0,085	-0,005	0,047	0,01	-0,045	0,079	0,032	0,014	-0,1	0,135	0,01	0,173	0,027	-0,03	1									
<i>drfA12</i>	0,315	-0,005	0,392	-0,039	-0,168	0,01	-0,12	-0,054	0,257	-0,136	-0,066	-0,139	-0,069	0,109	0,173	-0,158	1								
<i>mdfA</i>	0,042	0,263	0,269	0,116	-0,081	0,07	-0,132	-0,063	0,385	-0,058	0,221	-0,015	0,267	-0,029	-0,078	0,1	0,166	1							
<i>oqxA</i>	-0,052	-0,001	-0,001	-0,053	-0,101	-0,04	0,044	-0,015	-0,118	-0,088	0,005	-0,067	-0,042	0,126	-0,06	0,184	-0,026	-0,015	1						
<i>qacA/B</i>	-0,068	-0,072	0,122	0,164	0,054	-0,023	-0,058	-0,053	0,029	0,074	0,09	-0,04	0,151	0,09	-0,07	-0,045	0,01	0,192	-0,04	1					
<i>qacEΔ1</i>	-0,013	0,093	-0,05	-0,003	0,028	0,151	-0,061	0,216	0,146	0,017	0,159	0,421	0,187	0,06	-0,048	-0,005	-0,031	0,216	0,042	0,044	1				
<i>qacH</i>	-0,223	0,355	0,184	-0,102	0,017	-0,076	0,198	0,147	-0,064	-0,169	-0,051	0,047	0,353	0,08	-0,051	0,063	-0,062	0,331	0,224	-0,076	0,032	1			
<i>qacEF/sulR</i>	-0,068	0,125	-0,037	-0,031	0,167	-0,023	0,057	0,315	0,107	0,074	0,363	-0,04	-0,064	0,002	0,083	0,096	-0,082	0,07	-0,04	-0,023	0,366	0,019	1		
<i>intl1</i>	-0,025	-0,045	-0,043	-0,027	-0,063	0,118	-0,099	-0,075	0,006	-0,071	-0,099	-0,068	0,079	-0,012	-0,009	0,068	-0,159	0,014	0,051	0,118	-0,083	0,007	-0,075	1	



Conclusion

Conclusion

Au terme de ce travail un instantané a été développé décrivant l'état actuel de la contamination des surfaces au niveau des blocs opératoires du CHU de Tlemcen (Algérie) ainsi que les niveaux de résistance aux antimicrobiens en milieu hospitalier, traduisant souvent des niveaux inacceptables et générant une multirésistance toute aussi importante.

Notre hypothèse consistait à démontrer que le phénomène d'antibiorésistance était non seulement associé à l'insensibilité aux biocides mais prenait naissance suite à une surutilisation massive de ces derniers.

Il ressort de cette étude une forte abondance dans les services scrutés des entérobactéries exprimant un taux d'isolement de (74,51%) avec une prédominance d'*Enterobacter cloacae*. Le service des urgences médico-chirurgicales est probablement le plus contaminé avec un taux d'isolement de 41%.

Cette recherche nous a permis de révéler des fluctuations dans les taux de résistances aux antibiotiques. En effet aucune famille n'a été épargnée de cette insensibilité qui semble être spécifique à chaque espèce bactérienne.

Nos résultats ont montré également une possible tolérance des souches d'*Enterobacter* à certains biocides traduisant ainsi de manière conséquente leur inefficacité.

À l'origine de ce phénomène une mosaïque de gènes compose le support génétique responsable des différents mécanismes biochimiques impliqués dans cette résistance ainsi, l'environnement hospitalier peut être considéré comme un réservoir important pour la dissémination des gènes de résistance aux antimicrobiens. Il est important de noter la présence de gènes à l'origine pompes à efflux tel que le gène *mdfA* chez 10,9% des souches et du gène *oqxA* chez 6,3% des souches. Par ailleurs, parmi les gènes spécialement impliqués dans la tolérance aux ammoniums quaternaires, *qacΔ1*, *qacH* et *qacA/B* ont été détectés respectivement à des taux de 11,69%, 1,30% et de 2,3%.

Paradoxalement des gènes impliqués dans la résistance aux β-lactamines par la production de β-lactamases à spectre élargi *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}* et *bla_{CTX-M-2}* ont été mis en évidence respectivement chez 36,6%, 16,6% et 18,3% des souches testées.

L'analyse de ces résultats a montré dans certains cas une possible corrélation positive entre la présence des gènes de tolérance aux biocides et ceux de la résistance aux antibiotiques.

Conclusion

En effet la tolérance aux biocides pourrait être un des facteurs de la Co-sélection de la résistance aux antibiotiques, ce qui nous incite à recourir aux bonnes pratique d'hygiène au niveau des hôpitaux et au respect du bon usage des antimicrobiens afin de préserver les molécules. Il serait intéressant d'établir une nouvelle stratégie et d'explorer d'autres alternatives (nouvelles formulations) pour combattre ces bactéries sur les surfaces avant qu'elles puissent atteindre les patients.

Compte tenu des limites de cette étude, nous n'avons pu analyser l'ensemble de ce sujet très vaste. Cependant, il nous semblerait intéressant, dans l'avenir, d'explorer l'aspect génétique de cette résistance tout en explorant les mécanismes intervenant dans la régulation. Comme il convient également, d'élargir l'étude vers d'autres groupes bactériens et d'autres régions en vue d'une meilleure compréhension du statut de la tolérance aux biocides à l'échelle nationale. Ceci nous permettra, dans le future, d'adapter les moyens et les protocoles de lutte contre la contamination de l'environnement hospitalier et par conséquent de réduire l'incidence des infections liées aux soins et toutes les complications qui s'en suivent.



Références bibliographiques

-
1. Al Atrouni A., Monzer H., Jisr T., Lemarie C., Eveillard M., and Kempf M. 2016. "Wide Spread of OXA-23-Producing Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Belonging to Clonal Complex II in Different Hospitals in Lebanon." *International Journal of Infectious Diseases* 52: 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.09.017>
 2. Abriouel H., Lucas R., Ben Omar N., Valdivia E., Maqueda M., Martínez-Cañamero M., and Gálvez A., 2005. "Enterocin AS-48RJ : a variant of enterocin AS-48 chromosomally encoded by *Enterococcus faecium* RJ16 isolated from food." *Systematic and Applied Microbiology* 28 (5) : 383–97. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.01.007>
 3. Adzitey F., 2015. "Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry." *World's Vet. J* 5 (3): 36–41.
 4. Agata E., Thayer V., and Chaffner W., 2000. "An outbreak of *Acinetobacter baumannii* : the importance of cross-transmission." *Infection Control and Hospital Epidemiology* 21 (9) : 588–91. <https://doi.org/10.1086/501808>
 5. Ahoyo A.T., Baba-moussa L., Anago A. E., Avogbe P., Missihoun T. D., and Loko F. 2007. "Incidence d'infections Liées à *Escherichia coli* Producteur de Bêta-lactamase à spectre élargi au centre hospitalier départemental du Zou et Collines au Bénin." *Médecine ET Maladies Infectieuses* 37 (2007): 746–52. Doi : 10.1016/j.medmal.2007.03.004
 6. Alekshun M. N., and Levy S. B., 2007. "Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance," *J. Cell* 128 (06)1037-50 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>
 7. Alekshun M. N., and Levy S. B., 1999. "The Mar Regulon : Multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals," *Trends Microbiol* ; 7(10):410-3. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(99\)01589-9](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(99)01589-9)
 8. Andrade L. N., Siqueira T. E. S., Martinez R., Darini A.L.C., 2018. " Multidrug-resistant CTX-M-(15, 9, 2)- and KPC-2-producing *Enterobacter hormaechei* and *Enterobacter asburiae* isolates possessed a set of acquired heavy metal tolerance genes including a chromosomal sil operon (for acquired silver resistance)." *Frontiers in Microbiology* 9 (3) : 1–6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00539>
 9. Antunes P., Machado J., Sousa J. C., Peixe L., 2005. "Dissemination of sulfonamide resistance genes (*Sul1*, *Sul2*, and *Sul3*) in Portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (2) : 836–39. Doi : 10.1128/AAC.49.2.836-839.2005
 10. Arana D.M., Ortega A., González-Barberá E., Lara N., Bautista V., Gómez-Ruíz D., Sáez D., Fernández-Romero S., Aracil B., Pérez-Vázquez M., Campos J., Oteo J., 2017.

-
- “Carbapenem-Resistant *Citrobacter* spp. isolated in Spain from 2013 to 2015 Produced a Variety of Carbapenemases Including *VIM-1*, *OXA-48*, *KPC-2*, *NDM-1* and *VIM-2*.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 72: 3283–87. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx325>
11. Armand-lefèvre L., Angebault C., Barbier F., Hamelet E., Defrance G., and Ruppé E., 2013. “Emergence of imipenem-resistant Gram-Negative bacilli in Intestinal flora of intensive care patients.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57 (3): 1488–95. Doi: 10.1128/AAC.01823-12
 12. Baba Ahmed Z., Ayad A., Mesli E., Messai Y., Bakour R., and Drissi M., 2012. “CTX-M-15 Extended-Spectrum Beta-Lactamases in *Enterobacteriaceae* in the intensive care unit of Tlemcen hospital, Algeria.” *Eastern Mediterranean Health Journal*, 18 (4), 382-386, Doi: 10.26719/2012.18.4.382
 13. Baba Ahmed-Kazi Tani Z., Decré D., Genel N., Boucherit-Otmani Z., Arlet G., Drissi M., 2013. “Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen hospital (Algeria) (2008–2010).” *Microbial Drug Resistance* 19 (3) 185-90. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0161>
 14. Baba-Ahmed-kazi-Tani Z., and Arlet G., 2014. “actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram-négatif en Algérie.” *Pathologie Biologie* 62: 169–78. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2014.01.005>
 15. Barah F., 2013. “Non-antibiotic biocides : an updated review,” *Formatex* 598–607.
 16. Bellifa S., Hassaine H., Balestrino D., Charbonnel N., Imane M., Kara Terki I., Lachachi M., Didi W., and Forestier C., 2013. “Evaluation of Biofilm Formation of *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Medical Devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria.” *African Journal of Microbiology Research* 7 (49): 5558–64. Doi : 10.5897/AJMR12.2331
 17. Bertrand S., Weill F.X., Cloeckert A., Vrints M., Mairiaux E., Praud K., Dierick K., Wildemaue C., Godard C., Butaye P., Imberechts H., Grimont P.A. D., Collard J., 2006. “Clonal Emergence of Extended-Spectrum β -Lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003).” *Journal of Clinical Microbiology* 44 (8) : 2897–2903. Doi : 10.1128/JCM.02549-05
 18. Bhat A.K., Parikh N.K., and Acharya A., 2018. “Orthopaedic surgical site infections : A prospective cohort study.” *Canadian Journal of Infection Control* 33 (4): 227–29. Doi: 10.3325/cmj.2008.1.58.

-
19. Bialek-davenet S., Lavigne J.P., Guyot K., and Brisse S., 2014. “Differential Contribution of *AcrAB* and *OqxAB* Efflux Pumps to Multidrug resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 70: 81–88. <https://doi.org/10.1093/jac/dku340>
 20. Blair J.M.A, Webber M. A., Baylay A. J., Ogbolu D. O., and Piddock L. J. V., 2015. “Molecular mechanisms of antibiotic resistance.” *Nature Reviews Microbiology* 13 (1): 13, 42–51 <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
 21. Bogaerts P., Bouchahrouf W., Rezende De Castro R., Deplano A., Berhin C., Piérard D., Denis O., and Glupczynski Y., 2011. “Emergence of NDM-1-Producing *Enterobacteriaceae* in Belgium.” *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55 (6): 3036–38. Doi : 10.1128/AAC.00049-11
 22. Bourafa N., Chaalal W., Bakour S., Lalaoui R., Boutefnouchet N., Diene S. M., Rolain J.-M., 2018. “Molecular characterization of carbapenem- resistant Gram-Negative bacilli clinical isolates in Algeria.” *Infection and Drug Resistance* 11: 735–42.
 23. Bridier A., Briandet R., Thomas V. and Dubois-Brissonnet F. 2011. “Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review.” *Biofouling : The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research* 27 (9): 37–41. DOI:10.1080/08927014.2011.626899
 24. Buffet-bataillon S., Tattevin P., Maillard J.Y., Bonnaure-Mallet M., and Jolivet-Gougeon A., 2016. “Efflux Pump induction by quaternary ammonium compounds and fluoroquinolone resistance in bacteria” *Future Microbiol* 11: 81–92. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.131>
 25. Buffet-Bataillon S., Tattevin P., Bonnaure-Mallet M., and Jolivet-Gougeon A., 2012. “Emergence of resistance to antibacterial agents : the role of quaternary ammonium compounds—a critical Review.” *International Journal of Antimicrobial Agents* 39 (5) : 381–89. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.01.011>
 26. Carle S., 2009. “La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important.” *Pharmactuel* 42 (2) : 6–21.
 27. Caselli E., D Accolti M., Soffritti I., Piffanelli M., and Mazzacane S., 2018. “Spread of *mcr-1*-Driven Colistin resistance on hospital surfaces, Italy.” *Emerging Infectious Diseases* 24 (9) : 1752–53 Doi:10.3201/eid2409.171386
 28. Cattoir V., 2004. “Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries.” *Pathologie Biologie* 52: 607–16. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.09.001>

-
29. CDC. 2011. "Gram-Negative Bacteria Infections in Healthcare Settings General Information about Gram-Negative Bacteria."
 30. CDC. 2019a. "Procedure-Associated Module Surgical Site Infection."
 31. CDC. 2019b. "Types of Healthcare-Associated Infections." 2019.
 32. Cerf O., Carpentier B., and Sanders P., 2010. "Tests for determining in-use concentrations of antibiotics and disinfectants are based on entirely different concepts : 'Resistance' has different meanings." *International Journal of Food Microbiology* 136 (3) : 247–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.002>
 33. Chawla K., Vishwanath S., Munim F.C., 2013. "Nonfermenting Gram-Negative bacilli other than *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. causing respiratory tract infections in a tertiary care center." *J Glob Infect Dis* 5 (4) : 144–148. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.121996>
 34. Chiu C.H., Su L.H., Chu C. H., Wang M. H., Yeh C. M., Weill F. X., and Chu C., 2006. "Detection of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* serovar typhimurium phage types DT102, DT104, and U302 by multiplex PCR." *Journal of Clinical Microbiology* 44 (7): 2354–58. Doi : 10.1128/JCM.00171-06
 35. Chuanchuen R., Khemtong S., and Padungtod P., 2007. "Occurrence of *qacE/qacEΔ1* genes and their correlation with class 1 integrons in *Salmonella enterica* isolates from Poultry and Swine." *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 38 (5) : 855–62.
 36. Clsi. 2014. "M100-S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement an informational supplement for global application developed through the clinical and laboratory standards institute consensus process." *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Fifteenth Informational Supplement M100-S15*.\r.
 37. Courvalin P., 2008. "la résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques." *In Bull. Acad. Vét.*, 161 25–28.<https://doi.org/10.4267/2042/47917>
 38. Cox G., and Wright G.D., 2013. "Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions." *International Journal of Medical Microbiology*. 303 (6-7):287-92. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009>
 39. D.A. Boyd, L. F. Mataseje, R. Davidson, J. A. Delport, J. Fuller, L. Hoang, B. Lefebvre, P. N. Levett, D. L. Roscoe, B. M. Willey, M. R. Mulvey. 2017. "*Enterobacter Cloacae*

-
- complex isolates harboring bla_{NMC-A} or bla_{IMI}-Type Class A Carbapenemase Genes on novel chromosomal integrative elements and plasmids.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61 (5): 1–12. Doi: 10.1128/AAC.02578-16
40. Dame S., Davies C., 2011. “Infections and the rise of antimicrobial resistance.” *Annual Report of the Chief Medical Office*. Vol. 02.
41. Dancer S. J., 2004. “How do we assess hospital cleaning ? a proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals.” *Journal of Hospital Infection* 56: 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2003.09.017>
42. Dancer S. J., 2011. “Hospital Cleaning in the 21st Century.” *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30(12) : 1473–81. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1250-x>
43. Davin-Regli, and Pages J.M., 2012. “Cross-resistance between biocides and antimicrobials : an emerging question.” *Revue Scientifique et Technique de l’OIE* 31 (1) : 89–104. <http://dx.doi.org/10.20506/rst.31.1.2099>
44. Davin-Regli, and Pages J.M., 2015. “*Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment.” *Frontiers in Microbiology* 6 : 1–10. Doi:0.3389/fmicb.2015.00392
45. Davoudi-Monfared E. and khalili H., 2018. “The threat of carbapenem-resistant Gram-Negative bacteria in a middle east region.” *Infection and Drug Resistance* 11: 1831–80. Doi: 10.2147/IDR.S176049
46. Debabza M., 2015. “Emergence en milieu hospitalier des bacilles gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire.” these de doctorat université d’Annaba.
47. Debabza M., Mechai A., and Chettibi H., 2014. “Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolated from hospital environments.” *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc* 16 (2) : 19–27.
48. Deng Y., Bao X., Ji L., Chen L., Liu J., Miao J., Chen D., Bian H., and Li Y., 2015. “Resistance Integrons : Class 1, 2 and 3 Integrons.” *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 45 (14) : 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0100-6>
49. Denyer S. P., 1995. “Mechanisms of action of antibacterial biocides.” *International Biodeterioration and Biodegradation* 36 (3–4) : 227–45. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(96\)00015-7](https://doi.org/10.1016/0964-8305(96)00015-7)

-
50. Denyer S.P., and Maillard J.Y., 2002. "Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-Negative bacteria." *J Appl Microbiol Symposium Supplement* 92 : 35S-45S. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.19.x>
51. Denyera S. P., 1998. "Mechanisms of action of disinfectants" *International Biodeterioration and Biodegradation* 41 (3-4) : 261-68. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(96\)00015-7](https://doi.org/10.1016/0964-8305(96)00015-7)
52. Dietz M.J., Bostian P. A., Ernest E. P., Klein A. E., Lasala P.R., Frye B. M., and Lindsey B. A., 2019. "Rate of surface contamination in the operating suite during revision total joint arthroplasty." *Arthroplasty Today* 5 (1) : 96-99. <https://doi.org/10.1016/j.artd.2018.09.007>
53. Doi Y., 2019. "Treatment options for carbapenem-resistant Gram- Negative bacterial infections." *Clinical Infectious Diseases* 69 (7) : 565-75. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz830>
54. Donlan R. M., 2000. "Role of biofilms in antimicrobial resistance." *ASAIO Journal*, 47-52.
55. Donnell G. M C. and Russell A.D., 1999. "Antiseptics and disinfectants : activity , action , and resistance" *Clin Microbiol Rev* 12 (1): 147-79 Doi: 10.1128/CMR.12.1.147
56. Dossim S., Salou M., Gozo A.V., Teko-Agbeble K., Ekouevi D.K., Dosseh D., Go-Donou V., Akakpo-Numado, Tekou H., Prince-David M., and Dagnra A.Y., 2017. "Écologie bactérienne de l'environnement et du matériel lors des différentes étapes de stérilisation au bloc opératoire du CHU Sylvanus Olympio a Lome au Togo." *Revue Cames Sante* 5 (2): 4-10.
57. Dziri R., Klibi N., Alonso C. A., Ben-Said L., Bellaaj R., Ben-Slama K., Boudabous A., and Torres C., 2016. "Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Citrobacter* obtained in environmental samples of a Tunisian hospital." *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 86(2):190-3. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.07.013>
58. Etebu E., and Arikekpar I., 2016. "Antibiotics : Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives" *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.* 4: 90-101
59. Falcone M., Mezzatesta M.L., Perilli M., Forcella C., Giordano A., Cafiso V., micosante G.A., Stefani S., and Venditti M., 2009. "Infections with VIM-1 Metallo- Beta -Lactamase-producing *Enterobacter cloacae* and their correlation with clinical outcome." *Journal of clinical microbiology* 47 (11): 3514-19. Doi : 10.1128/JCM.01193-09

-
60. Farzan A., Friendship R. M., Poppe C., Martin L., Dewey C. E., and Funk J. 2008. "Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella typhimurium* DT104 on Ontario Swine Farms" *Can J Vet Res* 4 (519): 188–94.
61. Ferna F., Vila J., and Martí L., 2015. "Reduced susceptibility to biocides in *Acinetobacter baumannii* : association with resistance to antimicrobials , epidemiological behaviour , biological cost and effect on the expression of genes encoding porins and efflux pumps" *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 70(12), 3222-29. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv262>
62. Fernández Márquez M.L., Grande-Burgos M.J., López -Aguayo M.C., Pulido R. P., Gálvez A., and Lucas R., 2017. "Characterization of biocide-tolerant bacteria isolated from cheese and dairy small-medium enterprises." *Food Microbiology* 62: 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.008>
63. Fernández-Fuentes M.A., Abriouel H., Morente E. O., Pulido R. P., and Gálvez A., 2014. "Genetic determinants of antimicrobial resistance in gram positive bacteria from organic foods." *International Journal of Food Microbiology* 172: 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.032>
64. Floret N., Bertrand X., Thouverez M., and Talon D., 2009. "Infections Nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : Origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ?" *Pathologie Biologie* 57: 9–12. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.07.011>
65. Fraise A.P., 2002. "Biocide abuse and antimicrobial resistance — a cause for concern ?" *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2)11–12. <https://doi.org/10.1093/jac/49.1.11>
66. Fraise A.P., Maillard J.Y., and Sattar S.A., 2012. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization., 5th Edition, Blackwell Publishing Ltd
67. Friedman N.D., Temkin E., and Carmeli Y., 2016. "The negative impact of antibiotic resistance." *Clinical Microbiology and Infection* 58: 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.002>
68. Gad G.F., Mohamed H. A., and Ashour H. M., 2011. "Aminoglycoside resistance rates, phenotypes, and mechanisms of Gram-Negative bacteria from infected patients in upper Egypt." *PLoS ONE* 6 (2) : 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017224>
69. Gadea R., Fernández Fuentes M.Á., Pulido R.P., Gálvez A., and Ortega E., 2017. "Effects of exposure to quaternary-ammonium-based biocides on antimicrobial susceptibility and tolerance to physical stresses in bacteria from organic foods." *Food Microbiology* 63: 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.037>

-
70. Gadea R., Fernández Fuentes M.Á., Pulido R.P., Gálvez A., and Ortega E., 2016. “Adaptive tolerance to phenolic biocides in bacteria from organic foods: effects on antimicrobial susceptibility and tolerance to physical stresses.” *Food Research International* 85: 131–43. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.033>
71. Gadea R., Glibota N., Pulido R.P., Gálvez A., and Ortega E., 2017. “Adaptation to biocides cetrimide and chlorhexidine in bacteria from organic foods : association with tolerance to other antimicrobials and physical stresses.” *J. Agric. Food Chem.* 65(8) 1758–70 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04650>
72. Garneau-Tsodikova S., Labby K.J., 2015. “Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics : overview and perspectives.” *Medchemcomm* 7(1):11-27 Doi: 10.1039/C5MD00344J
73. Gaynes R., and Edwards J. R., 2005. “Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli.” *Healthcare Epidemiology* 41(6) 848–54. <https://doi.org/10.1086/432803>
74. Gerard G.W., 2005. “Bacterial resistance to antibiotics : enzymatic degradation and modification.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 57 (10) 1451–70. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>
75. Gerard G.W., 2011. “Molecular mechanisms of antibiotic resistance.” *Chenocomm* 47 (14) 4055–61. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
76. Giacometti A., Cirioni O., Schimizzi A. M., Del-Prete M. S., Barchiesi F., D’Errico M. M., Petrelli E. and Scalise G. 2000. “Epidemiology and microbiology of surgical wound infections.” *Journal of Clinical Microbiology* 38 (2): 918–22. DOI: 10.1128/JCM.38.2.918-922.2000
77. Gilbert P., and Moore L. E., 2005. “Cationic Antiseptics : Diversity of Action under a Common Epithet,” *Journal of Applied Microbiology* 99 (4) 703–15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>
78. Gomaa F.A. M., Helal Z. H. and Khan M. I., 2017. “High prevalence of *bla*_{NDM-1}, *bla*_{VIM}, *qacE* and *qacE* Δ 1 genes and their association with decreased susceptibility to antibiotics and common hospital biocides in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*.” *Microorganisms* 5 (18): 1–15 <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020018>
79. Gordon A. E. K., Mathers A. J., Cheong E. Y. L., Gottlieb T., Kotay S., Walker A. S., Peto T. E. A., Crook D. W. and Stoesser N., 2017. “The hospital water environment as a reservoir for carbapenem-resistant organisms causing hospital- acquired infections — a

-
- systematic review of the literature” *Clinical Infectious Diseases* 64(10) 1435–1444.
<https://doi.org/10.1093/cid/cix132>
80. Grande Burgos M. J., López Aguayo M. C., Pérez Pulido R., Gálvez A., and Lucas López R., 2014. “Multilocus sequence typing and antimicrobial resistance in *Enterococcus Faecium* isolates from fresh produce.” *Antonie van Leeuwenhoek* 105 (2) : 413–21.
<https://doi.org/10.1007/s10482-013-0073-4>
81. Gu C. T., Li C. Y., Yang L. J., and HuoG. C., 2014. “*Enterobacter xiangfangensis* sp. nov., Isolated from chinese traditional Sourdough, and reclassification of *Enterobacter Sacchari* Zhu et Al. 2013 as *Kosakonia sacchari* Comb. Nov.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 2650–56 Doi: 10.1099/ijs.0.064709-0
82. Guérin F., 2015. “Infections à *Enterobacter cloacae* complex : résistance aux antibiotiques et traitement.” *Journal Des Anti-Infectieux* 17 (3) 79–89.
<https://doi.org/10.1016/j.antinf.2015.03.002>
83. Guerra B., Soto S. M., and Argüelles J. M., 2001. “Multidrug resistance is mediated by large plasmids carrying a class 1 integron in the emergent *Salmonella enterica* serotype [4, 5,12 : i :-]” *Antimicrob Agents Chemother* 45 (4) : 1305–8. Doi : 10.1128/AAC.45.4.1305-1308.2001
84. Guillard T., Cholley P., Limelette A., Hocquet D., Matton L., Guyeux C., Lebreil A.L ., Bajolet O., Brasme L., Madoux J., Vernet-Garnier V., Barbe C., Bertrand X., De Champs C., 2015. “Fluoroquinolone resistance mechanisms and population structure of *Enterobacter cloacae* non-susceptible to ertapenem in north-estern of France.” *Frontiers in Microbiology* 6 (10): 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01186>
85. Hajjar H., Hartemann P., Luu-Duc D., Nicolle M.C, Perraud M., Bertrou A., Cetre J.C., Fabry J., Chapuis C. and Guignement S., 2000. “Controles microbiologiques de l’environnement hospitalier.” *hygienes*8 (3): 139–79.
86. Hansen L.H., Sorensen S. J., Jørgensen H. S., and Jensen L. B., 2005. “The prevalence of the OqxAB Multidrug Efflux Pump amongst Olaquinox-resistant *Escherichia coli* in pigs.” *Microbial Drug Resistance* 11 (4) : 378–82.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2005.11.378>
87. Haque M., Sartelli M., McKimm J., and Abu Bakar M., 2018. “Health care-associated infections – an overview.” *Infection and Drug Resistance* 11: 2321–33. Doi : 10.2147/IDR.S177247

-
88. Hartemann P., Blech M.-E, Simon L., 1997. "Les controles microbiologiques de l'environnement hospitalier." *Revue Francaise Des Laboratoires* 291: 43–47. [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(97\)80112-6](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(97)80112-6)
89. Heath J.R., Rubin J. R., Holland D.R., Zhang E., Snow M. E., C. O. Rock, " Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis." *Journa of biological chemistry* 274 (16) 11110-11114 <https://doi.org/10.1074/jbc.274.16.11110>
90. Hegstad K., Langsrud S., Lunestad B. T., Scheie A. A., Sunde M. and Yazdankhah S.P., 2010. "Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health ?" *Microbial Drug Resistance* 16 (2): 91–104.<https://doi.org/10.1089/mdr.2009.0120>
91. Henshaw D. L., and O'Carroll M. J., 2009. "Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) ". Brussels : European Commission.
92. Hermann T., 2007. "Aminoglycoside antibiotics : old drugs and new therapeutic approaches." *Cellular and Molecular Life Sciences* 64: 1841–52. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7034-x>
93. Ho P. L., Shek R. H. L., Chow K. H., Duan R. S., Mak G. C., Lai E.L., Yam W. C., Tsang K. W., and Lai W. M., 2005. "Detection and characterization of extended-spectrum β -lactamases among bloodstream isolates of *Enterobacter* spp. in Hong Kong, 2000– 2002." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55 (3) : 326–32. Doi:10.1093/jac/dki010
94. Hubbard A.T. M., Coates A.R. M., and Harvey R. D., 2017. "Comparing the action of HT61 and chlorhexidine on natural and model *Staphylococcus aureus* membranes" *The Journal of Antibiotics* 70 (10): 1020–25.<https://doi.org/10.1038/ja.2017.90>
95. Jaglic Z., and Cervinkova D., 2012. "Genetic basis of resistance to quaternary ammonium compounds - the Qac genes and their role : a review." *Veterinarni Medicina* 57 (6): 275–81. <https://doi.org/10.17221/6013-VETMED>
96. Jalalpoor S., 2011. "Study of the antibiotic resistance pattern among the bacterial isolated from the hospital environment of azzahra hospital, Isfahan, Iran." *African Journal of Microbiology Research* 20 (5): 3317–20.
97. Jennings M.C., Minbiole K.P.C. and Wuest W. M., 2016. "Quaternary ammonium compounds : an antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance." *ACS Infectious Diseases* 1 (7): 288–303. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00047>

-
98. Jianhui X., Déraspe M., Iqbal N., Ma J., Jamieson F.B., Wasserscheid J., Dewar K., Hawkey P.M., and Roy P.H., 2016. “Genome and plasmid analysis Of *bla*IMP-4-carrying *Citrobacter freundii* B38.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60 (11) : 6719–25. Doi : 10.1128/AAC.00588-16
99. Jin C., Zhang J., Wang Q., Chen H., and Wang X., 2018. “Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in 11 chinese cities.” *Frontiers in Microbiology* 9: 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01597>
100. Jones C.G., 1997. “Chlorhexidine : Is It Still the Gold Standard ?” *Periodontol* 2000. 15:55-62 Doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00105.x
101. Kadry A.A., Serry F. M., El-ganiny A. M., El-baz A.M., 2017. “Integron occurrence is linked to reduced biocide susceptibility in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*.” *British Journal of Biomedical Science* 4845 (3): 1–7.
102. Kameda N., Nishio J., Ogawa T., Okada S., 2018. “Intestinal bacterial contamination of surgical instruments used for wound closure during intestinal surgery.” *Journal of Perioperative Nursing* 31 (3) : 2209–1084.
103. Kathuria D., Bankar A. A., and Bharatam P. V., 2018. “What’s in a structure?” the story of biguanides.” *Journal of Molecular Structure* 1152: 61–78 <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.08.100>
104. Kaye K.S., and Pogue J. M., 2015. “Infections caused by resistant Gram-Negative bacteria : epidemiology and management.” *Pharmacotherapy* 35 (10): 949–962. <https://doi.org/10.1002/phar.1636>
105. Kazama H., Hamashima H., Sasatsu M., and Arai T., 1998. “Distribution of the antiseptic-resistance genes *qacE* and *qacEA1* in Gram-Negative bacteria.” *FEMS Microbiology Letters* 159 (2) : 173–78. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb12857.x>
106. Knetsch M. L W., and Koole L.H., 2011. “New strategies in the development of antimicrobial coatings : the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles.” *Polymers* 3 (1) : 340–66. <https://doi.org/10.3390/polym3010340>
107. Kücken D., Feucht H. H., and Kaulfers P. M., 2000. “Association of *qacE* and *qacEA1* with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-Negative bacteria.” *FEMS Microbiology Letters* 183 183: 95–98.<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08939.x>

-
108. Lagha N., Hassaine H., Robin F., Bonnet R., and Abdelouahid D.E., 2016. "Prevalence and molecular typing of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii* isolates from Laghouat hospital, Algeria." *African Journal of Microbiology Research* 10 (35): 1430–38. Doi : 10.5897/AJMR2016.8263
109. Lear J. C., Maillard J. Y., Dettmar P. W., Goddard P. A., and Russell A. D., 2002. "Chloroxylenol- and triclosan-tolerant bacteria from industrial sources." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 29 (5): 238–42. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000320>
110. Lee J.H., Choi C. H., Kang H.Y., Lee J. Y., Kim J., Lee Y.C., Seol S. Y., Cho D.T., Kim K.W., Song D. Y., Lee J.C., 2007. "Differences in phenotypic and genotypic traits against antimicrobial agents between *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* Genomic Species 13TU." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59 (3): 633–39. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm007>
111. Lerma L.L., Benomar N., Casado Muñoz M. d- C., Gálvez A., and Abriouel H., 2015. "Correlation between antibiotic and biocide resistance in mesophilic and psychrotrophic *Pseudomonas* spp. isolated from slaughterhouse surfaces throughout meat chain production." *Food Microbiology*. 51(10) 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.010>
112. Levy S.B., 2002. "Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance." *Journal of Applied Microbiology*.92:65-71. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.4.x>
113. Li J., Nation R. L., Turnidge J. D., Milne R.W., Coulthard K., Rayner C. R., and Paterson D. L., 2006. "Colistin : The re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-Negative bacterial infections." *Lancet Infect Dis* 6 (9) 589–601. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70580-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70580-1)
114. Li X.Z., Plésiat P. and Nikaido H., 2015. "The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-Negative bacteria." *Clin Microbiol Rev* 28 (2): 337–418. Doi : 10.1128/CMR.00117-14
115. Linda R., Greene RN., 2012. "Guide to the elimination of orthopedic surgery surgical site infections : an executive summary of the association for professionals in infection control and epidemiology elimination guide." *American Journal of Infection Control* 40 (4): 384–86. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.05.011>

-
116. Liu L., Chen D., Liu L., Lan R., Hao S., Jin W., Sun H., Wang Y., Liang Y. and Xu J., 2018. "Genetic diversity, multidrug resistance, and virulence of *Citrobacter freundii* from diarrheal patients and healthy individuals." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8 (7) : 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00233>
117. Liu W.J., Fu L., Huang M., Zhang J. P., Wu Y., Zhou Y. S., Zeng J., and Wang G. X., 2017. "Frequency of antiseptic resistance genes and reduced susceptibility to biocides in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*." *Journal of Medical Microbiology* 66: 13–17. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000403>
118. Madsen L., Müller F., and Elmerdahl J., 2000. "characterisation of streptomycin resistance determinants in danish isolates of *Salmonella typhimurium*" *Veterinary Microbiology* 75: 73–82. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(00\)00207-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(00)00207-8)
119. Mah T.F., and O'Toole G.A., 2001. "Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents" *Trends Microbiol.* 9 (1) : 34–39. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01913-2](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01913-2)
120. Mahzounieh M., Khoshnood S., Ebrahimi A., Habibian S., Yaghoubian M., 2014. "Detection of antiseptic-resistance genes in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* spp. isolated from burn patients." *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 9 (2) : e15402. Doi : 10.17795/jjnpp-15402
121. Maillard J.Y., 2002. "Bacterial target sites for biocide action," *J Appl Microbiol* 92: 16–27. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.3.x>
122. Maillard J.Y., 2005. "Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage, policies, and perceived problems." *Therapeutics and Clinical Risk Management* 1 (4): 307–20.
123. Maillard J.Y., 2007. "Bacterial resistance to biocides in the healthcare environment: should it be of genuine concern?" *Journal of Hospital Infection* 65: 60–72. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(07\)60018-8](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(07)60018-8)
124. Makowska N., Koczura R., and Mokracka J., 2016. "Class 1 integrase, sulfonamide and tetracycline resistance genes in wastewater treatment plant and surface water." *Chemosphere* 144: 1665–73. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.044>
125. Mangram A.J., Horan T. C., Pearson M. L., Silver L. C., and Jarvis W.R., 1999. "Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. centers for disease control and prevention (CDC) hospital infection control practices advisory committee." *American*

Journal of Infection Control 27 (2): 97–134. [https://doi.org/10.1016/S0196-6553\(99\)70088-X](https://doi.org/10.1016/S0196-6553(99)70088-X)

126. Maraki S., Vardakas K.Z., Mavromanolaki V.E., Kyriakidou M., Spais G., Kofteridis D. P., Samonis G., and Falagas M.E., 2017. “In vitro susceptibility and resistance phenotypes in contemporary *Citrobacter* isolates in a university hospital in Crete, Greece” *Infectious Diseases* 49 (7): 1–8. <https://doi.org/10.1080/23744235.2017.1297896>
127. Mataseje L. F., Bryce E., Roscoe D., Boyd D. A., Embree J., Gravel D., Katz K., Kibsey P., Kuhn M., Mouchili A., Simor A., Taylor G., Thomas E., Turgeon N., Mulvey M. R., 2012. “Carbapenem-resistant Gram-Negative Bacilli in Canada 2009 – 10 : Results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (CNISP).” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67 (3) : 1359–67. <https://doi.org/10.1093/jac/dks046>
128. Mathlouthi N., Al-bayssari C., El Salabi A., Bakour and Ben-Gwierif S., 2016. “Carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases producing *Enterobacteriaceae* isolated from Tunisian and Libyan hospitals.” *The Journal of Infection in Developing Countries* 10 (7) : 718–27. Doi : 10.3855/jidc.7426
129. Mathlouthi N., Al-bayssari C., Bakour S., and Rolain J.M., 2016. “Prevalence and emergence of carbapenemases- producing Gram-Negative bacteria in mediterranean basin.” *Critical Reviews in Microbiology* 43(1) 43-61 <https://doi.org/10.3109/1040841X.2016.1160867>
130. McDonnell G., 2007. “Peroxygens and pther forms of oxygen : their use for effective cleaning, disinfection, and sterilization.” *ASC publictions* 967: 292–308. Doi : 10.1021/bk-2007-0967.ch013
131. Mehrad B., Clark N. M., Zhanel G. G., and Joseph L.P., 2015. “Antimicrobial resistance in hospital-acquired Gram-Negative bacterial infections.” *Chest* 147(5) 1413–21. Doi: 10.1378/chest.14-2171.
132. Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M. and Timinouni M., 2011. “Résistance aux quinolones de types *qnr*, *aac (6’)-Ib-cr* chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie” *Pathologie Biologie* 59(4)73–78. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.05.003>
133. Mesli E., 2014. “Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*.”these de doctorat

-
134. Mesli E., Berrazeg M., Drissi M., Bekhoucha S.N. and Rolain J.M., 2013. "prevalence of carbapenemase-encoding genes including new delhi metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria." *International Journal of Infectious Diseases*, 17(9) 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.02.024>
135. Meyer B. and Cookson B., 2010. "Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control ?" *Journal of Hospital Infection* 76 (3) 200-5 Doi : 10.1016/j.jhin.2010.05.020
136. M'hmedi I., Hassaine H., Bellifa S., Lachachi M. and Kara-Terki I., 2014. "Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* isolated from medical devices at the intensive care unit of the university hospital of Tlemcen (Algeria)." *African Journal of Microbiology Research* 8 (3) : 270–76. Doi : 10.5897/AJMR2013.6288
137. Molton J.S., Tambyah P. A., Ang B. S. P., Ling M. L., and Fisher D.A., 2013. "The global spread of healthcare-associated multidrug-resistant bacteria : a perspective from Asia." *Healthcare Epidemiology* 56 (9)1310–18. <https://doi.org/10.1093/cid/cit020>
138. Mordensky, S. P. ; Rabjohns, K.; Harris, A.; Lieuallen, A. E.; Verba C., 2016 . "Characterization of the Oriskany and Berea Sandstones : Evaluating Biogeochemical Reactions of Potential Sandstone–Hydraulic Fracturing Fluid Interaction," NETL-TRS-13-2016 ; NETL Technical Report Series ; U.S. Department of Energy, National Energy Technology Laboratory : Albany, OR, 2016 ; p 48.
139. Morente E.O., Fernández-Fuentes M. A., Grande Burgos M.J, Abriouel H., Pulido R.P., and Gálvez A., 2013b. "Biocide tolerance in bacteria." *International Journal of Food Microbiology*.162(1)13-25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.028>
140. Morrissey I., Oggioni M. R., Knight D., Curiao T., Coque T., Kalkanci A., and Martinez J. L., 2014. "Evaluation of Epidemiological Cut-off values indicates that biocide resistant subpopulations are uncommon in natural isolates of clinically-relevant microorganisms." *PLoS ONE* 9 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086669>
141. Mounier M., Pestourie N., Ploy M.-C., and Denis F., 2009. "Les détergents et les désinfectants : rôle en médecine (Ire Partie)." *Antibiotiques* 11(3)177-84. <https://doi.org/10.1016/j.antib.2009.06.002>
142. Mueller L., Ottiger C., Demord A., Poirel L. and Nordmann P., 2019. "Multiple colonization with carbapenem resistant Gram Negative bacteria acquired in India and transferred to Switzerland." *Infection* 47 (4) : 669–671 <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01307-4>

-
143. Mugnier P.D., Poirel L., Naas T., and Nordmann P., 2010. "Worldwide Dissemination of the blaOXA-23 Carbapenemase Gene of *Acinetobacter baumannii*" *Emerging Infectious Diseases* 16(1) :35-40. Doi : 10.3201/eid1601.090852
144. Murtough S. M., Hiom S. J., M. Palmer and A. D. Russell. 2001. "Biocide rotation in the healthcare setting : is there a case for policy implementation ?" *Journal of Hospital Infection* 48 (1) 1–6. <https://doi.org/10.1053/jhin.2001.0950>
145. Muylaert A., and Mainil J. G., 2012. "Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité »,» *Ann. Méd. Vét.*, (156) 109- 123.
146. Nedjai S., Barguigua A., Djahmi N., Jamali L., Zerouali K., Dekhil M., and Timinouni M., 2012. "Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria , in Algeria." *Medecine et Maladies Infectieuses* 42 (1): 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.10.001>
147. Nwankwo E., 2012. "Isolation of pathogenic bacteria from fomites in the operating rooms of a specialist hospital in Kano, North-Western Nigeria." *Pan African Medical Journal* 12 (90) 1–10.
148. Orji M.U., Mbata T.I., and Kalu O.U., 2005. "Isolation of pathogenic bacteria from hospital staff apparel in Nigeria." *Malawi medical journal* 17(4) :128-30. Doi : 10.4314/mmj.v17i4.10896
149. Owens C.D., and Stoessel K., 2008. "Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention." *The Journal of Hospital Infection* 70 (2) 3–10. Doi: 10.1016/S0195-6701(08)60017-1.
150. Pags, J.M. Monlezun L., Broutin I., and Davin-Regli A., 2011. "Les Mécanismes d'efflux et la résistance Chez *Pseudomonas aeruginosa*." *Revue Francophone Des Laboratoires* 2011 (435): 63–72. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71103-0](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71103-0)
151. Palmore T.N., and Henderson D. K., 2013. "Managing transmission of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in healthcare settings : a view from the trenches." *Healthcare Epidemiology* 57: 1593–99. <https://doi.org/10.1093/cid/cit531>.
152. Park C.H., Robicsek A., Jacoby G.A., Sahm D., and Hooper D.C., 2006. "Prevalence in the united states of *aac (6')-ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (11): 3953–55. Doi: 10.1128/AAC.00915-06
153. Patel R., 2005. "Biofilms and antimicrobial resistance," *Clinical Orthopaedics and Related Research* 437: 41–47. Doi : 10.1097/01.blo.0000175714.68624.74

-
154. Paterson D.L., 2006. "Resistance in Gram-Negative bacteria : *Enterobacteriaceae*." *American Journal of Infection Control* 34 (05) 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.238>
155. Paul M., Carmeli Y., Durante-mangoni E., Mouton J.W., Tacconelli E., Theuretzbacher U., Mussini C., and Leibovici L., 2014. "Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-Negative bacteria." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69 (09) 2305–9. <https://doi.org/10.1093/jac/dku168>
156. Peleg A.Y., and Hooper D. C., 2010. "Hospital-Acquired Infections due to Gram-negative bacteria." *N Engl J Med* 362: 1804–13. DOI : 10.1056/NEJMra0904124
157. Philippon A., and Arlet G., 2005. " les β -lactamases chez les bacilles à Gram-négatif: que de nouveautés en 15 ans !" *Antibiotiques* 7 (1): 247–59. [https://doi.org/10.1016/S1294-5501\(05\)80458-3](https://doi.org/10.1016/S1294-5501(05)80458-3)
158. Ploy M. C., Courvalin P., and Lambert T., 1998. "Characterization of In40 of *Enterobacter aerogenes* BM2688, a Class 1 integron with two new gene cassettes, *cmlA2* and *qacF*." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42 (10): 2557–63. Doi : 10.1128/AAC.42.10.2557
159. Poole K., 2002. "Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance." *Journal of Applied Microbiology*. 92(1) 55-64. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.8.x>
160. Ramakrishnan K., Rajagopalan S., Nair S., Kenchappa P., and Chandrakesan S. D., 2014. "Molecular characterization of Metallo β -Lactamase producing multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from various clinical samples." *Indian Journal of Pathology & Microbiology* 57 (4) : 579–82.
161. Rebbah N., Messai Y., Chatre P., Haenni M., Madec J. Y., Bakour R., 2017. "Diversity of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolates from retail raw ground beef : first report of CTX-M-24 and CTX-M-32 in Algeria." *Microbial Drug Resistance* 24 (7) 1-13. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0171>
162. Riaño I., Moreno M.A., Teshager T., Sáenz Y., Domínguez L. and Torres C., 2006. "Detection and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Salmonella enterica* strains of healthy food animals in Spain." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58 (4): 844–47 <https://doi.org/10.1093/jac/dkl337>

-
163. Rizk D.E. and El-mahdy A.M., 2017. "Emergence of class 1 to 3 Integrons among members of *Enterobacteriaceae* in Egypt." *Microbial Pathogenesis*.112(11) 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.023>
164. Roberts M.C., 2011. "Environmental macrolide –lincosamide – streptogramin and tetracycline resistant bacteria." *Frontiers in Microbiology* 2 (03) 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00040>
165. Roberts M.C., and Schwarz S., 2017. "Tetracycline and chloramphenicol resistance mechanisms." *Antimicrobial Drug Resistance* 15: 231–43. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46718-4_15
166. Robin F., Gibold L., and Bonnet R. 2012. "Résistances naturelles et acquises aux Béta -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ?" *Revue francophone des laboratoires* (445) : 47–58 [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71676-3](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71676-3)
167. Ruppé É., Woerther P.L., and Barbier F., 2015. "Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram - negative bacilli." *Annals of Intensive Care* 51 (2): 1–15.<https://doi.org/10.1186/s13613-015-0061-0>
168. Russell A. D., 2001. "Mechanisms of bacterial insusceptibility to biocides." *American Journal of Infection Control* 29 (4): 259–61. DOI:10.1067/mic.2001.115671
169. Russell A. D., 2004. "Whither Triclosan ?" *J Antimicrob Chemother* 53 (5): 693–95. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh171>
170. Russell A.D., 1995. "Mechanisms of bacterial resistance to biocides." *International Biodeterioration & Biodegradation* 36 (3–4): 247–65. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00056-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00056-9)
171. Russell A.D., 2000. "Do biocides select for antibiotic resistance ?" *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 52 : 227–33., <https://doi.org/10.1211/0022357001773742>
172. Russotto V., Cortegiani A., Raineri S.M., and Giarratano A., 2016. "Bacterial Contamination of inanimate surfaces and equipment in the intensive care unit." *Journal of Intensive Care*, 3 (54) 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40560-015-0120-5>
173. Saenz Y., Brinas L., Dominguez E., Ruiz J., Zarazaga M., Vila J., and Torres C., 2004. "Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (10) : 3996–4001. Doi : 10.1128/AAC.48.10.3996-4001.2004

-
174. Sahu M., Sekar P., Ramalingam R., Bhalekar P., Suguna E., Soundari G., Krishnan P. and Menezes G. A., 2016. "Prevalence of carbapenem resistant Gram negative bacilli harboring bla_{NDM-1} gene isolated in a tertiary care hospital." *Current Research in Bacteriology* 9 (1) : 9–16. Doi : 10.3923/crb.2016.9.16
175. Saint S., Kowalski C. P., Kaufman S. R., Hofer T. P., Kauffman C. A., Olmsted R. N., Forman J., Banaszak-Holl J., Damschroder L. and Krein S. L., 2008. "Preventing hospital-acquired urinary tract infection in the united states : a national study." *Clinical Infectious Diseases* 46 (2) : 243–50. <https://doi.org/10.1086/524662>
176. Sennati S., Di Pilato V., Riccobono E., Di Maggio T., Villagran A. L., Pallecchi L., Bartoloni A., Rossolini G. M., and Giani T., 2017. "*Citrobacter craakii* carrying plasmid-borne mcr-1 colistin resistance gene from ready-to-eat food from a market in the chaco region of bolivia." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 72 (07) : 2127–29. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx078>
177. Sanders W.E., and Sanders C. C., 1997. "*Enterobacter* spp. : Pathogens poised to flourish at the turn of the century." *Clinical Microbiology Reviews* 10 (2) : 220–41. Doi : 10.1128/CMR.10.2.220
178. Saouide el ayne N., Echchelh A., Chaouch A., Auajjar N., Hamama S., Soulaymani A., 2014. "Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales : surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital El Idrissi de Kenitra - Maroc." *European Scientific Journal* 10 (09) : 338–47.
179. Schwechheimer C. and Kuehn M. J., 2015. "Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions." *Nature Reviews Microbiology* 13 (10): 605–19. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3525>
180. Schweizer H.P., 2001. "Triclosan : a widely used biocide and its link to antibiotics" *FEMS Microbiology Letters* 202 (01) 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10772.x>
181. SF2H, ministère de la santé et des sports et Hcsp. 2010. "Rcommendations : Surveillance and Prevention of Associated Infections." *Revue officielle de la Société Française d'Hygiène Hospitalière*
182. Shamsizadeh Z., Nikaeen M., Nasr Esfahani B., Mirhoseini S. H., Hatamzadeh M., and Hassanzadeh A., 2017. "Detection of antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospital environments : potential sources for transmission of *Acinetobacter*

-
- infections.” *Environmental Health and Preventive Medicine* 22 (44): 1–7.
<https://doi.org/10.1186/s12199-017-0653-4>
183. Simões L.C., Lemos M., Pereira A.M., Abreu A.C., Saavedra M. J., and Simões M., 2011. “Persister cells in a biofilm treated with a biocide.” *Biofouling : The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research* 27 (4): 403–11.
<https://doi.org/10.1080/08927014.2011.579599>
184. Smith K., Gemmell C.G., and Hunter I. S., 2008. “The association between biocide tolerance and the presence or absence of *qac* genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA Isolates.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61 (1) : 78–84. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm395>
185. Sun J., Deng Z. And Yan A., 2014. “Biochemical and biophysical research communications bacterial Multidrug Efflux Pumps : mechanisms, physiology and pharmacological exploitations.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 453 (2) : 254–67. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.05.090>
186. Svetlíkova Z., Škovierová H., Niederweis M., Gaillard J.L., McDonnell G., and Jackson M., 2009. “Role of porins in the susceptibility of *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium chelonae* to aldehyde-based disinfectants and drugs ” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53 (9) : 4015–18. Doi : 10.1128/AAC.00590-09
187. Swick M.C., Morgan-Linnell S.K., Carlson K. M., and Zechiedrich L., 2011. “Expression of multidrug efflux pump genes *acrAB-tolC*, *mdfA*, and *norE* in *Escherichia coli* clinical isolates as a function of fluoroquinolone and multidrug resistance.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55 (2) : 921–24. Doi : 10.1128/AAC.00996-10
188. Szabó D., Melan M. A., Hujer A.M., Bonomo R. A., Hujer K.M., Bethel C. R., Kristóf K., and Paterson D. L., 2005. “Molecular analysis of the simultaneous production of two SHV-Type extended-spectrum beta-lactamases in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* by using single-nucleotide polymorphism genotyping.” *Antimicrobial agents and chemotherapy* 49 (11) : 4716–20. Doi : 10.1128/AAC.49.11.4716-4720.2005
189. Takesue Y., Kusachi S., Mikamo H., Sato J., Kawabata R., Ohge H., Akagi S., et al. 2017. “Timicrobial susceptibility of pathogens isolated from surgical site infections in Japan : comparison of data from nationwide surveillance studies conducted in 2010 and 2014 e 2015An.” *Journal of Infection and Chemotherapy*, 23 (6) 339-348.
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2017.03.010>

-
190. Tékpá B. J. D., Tékpá G., Mapouka P. A. I., Djimong-Manda C. D., Ngbangbangai E. and Koffi B., 2017. “La Prévention des infections du site opératoire en orthopédie dans un pays en voie de développement prevention of the surgical site infections in orthopedics in a developing country.” *Revue de Chirurgie Orthopedique et Traumatologique* 103 (7): 823–27. <https://doi.org/10.1016/j.rcot.2017.06.010>
191. Tenke P., Kovacs B., Bjerklund Johansen T. E, Matsumoto T., Tambyah P.A., and Naber K.G., 2008. “European and asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections.” *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31 (01) 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.07.033>
192. The European Parliament and of the Council of the European Union. Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Official Journal of the European Community. 1998.
193. Thom K.A., Johnson J. K., Lee M.S., and Anthony D., 2011. “Environmental contamination due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* surrounding colonized or infected patient.” *Am J Infect Control* 39 (09) 711–15. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2010.09.005>
194. Touati A., and Mairi A., 2019. “Carbapenemase-producing enterobacterales in Algeria: a systematic review.” *Microbial Drug Resistance* 75 (01): 78–9. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0320>
195. Touati A., Zenati K., Brasme L., Benallaoua S. and De Champs C. 2010. “Extended-spectrum β - lactamase characterisation and heavy metal resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated from hospital environmental surfaces. letters to the editor pneumonia.” *Journal of Hospital Infection* 75 (1): 78–79. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.01.001>
196. Tran Q-T., Williams S., Farid R., Erdemli G., Pearlstein R., 2012. “The translocation kinetics of antibiotics through porin OmpC : insights from structure-based solvation mapping using WaterMap.” *Proteins* 81 (02) 291–99. <https://doi.org/10.1002/prot.24185>
197. Vali L., Davies S.E., Lai L.L. G., Dave J., and Amyes S. G. B., 2008. “Frequency of biocide resistance genes, antibiotic resistance and the effect of chlorhexidine exposure on clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61 (03) 524–32. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm520>

-
198. Veetil P. G. P., Nadaraja A. V., Bhasi A., Khan S., Bhaskaran K., 2012. "Degradation of triclosan under aerobic, anoxic and anaerobic conditions," *Appl Biochem Biotechnol* 167(6) :1603-12. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9573-3>
199. Veleba M., De Majumdar S., Hornsey M., Woodford N., and Schneiders T., 2013. "Genetic characterization of tigecycline resistance in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 68 (05) 1011–18. <https://doi.org/10.1093/jac/dks530>
200. Vinué L., Sáenz Y., Rojo-Bezares B., Olarte I., Undabeitia E., Somalo S., Zarazaga M., and Torres C., 2010. "Genetic environment of sul genes and characterisation of integrons in *Escherichia coli* isolates of blood origin in a Spanish hospital." *International Journal of Antimicrobial Agents* 35: 492–96 <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.01.012>
201. Wales A.D., and Davies R. H., 2015. "Co-selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and its relevance to foodborne pathogens," *Antibiotics (Basel)* ,4(4), 567-604. Doi : 10.3390/antibiotics4040567
202. Wand M.E., Bock L.J., Bonney L. C., and Sutton J.M., 2017. " Mechanisms of increased resistance to chlorhexidine and cross-resistance to colistin following exposure of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to chlorhexidin " *Antimicrob Agents Chemother* 61 (1) : 1–12. Doi : 10.1128/AAC.01162-16
203. Wang S. H., Sheng W. H., Chang Y. Y., Wang L. H., Lin H. C., Chen M. L., Pan H. J., Ko W. J., Chang S. C., and Lin F. Y., 2003. "Healthcare-associated outbreak due to pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in a surgical intensive care unit." *Journal of Hospital Infection* 53: 97–102. <https://doi.org/10.1053/jhin.2002.1348>
204. Watnick P., Kolter R., 2000. " Biofilm, city of microbes" *Journal of Bacteriology* 182 (10) : 2675–79. Doi : 10.1128/JB.182.10.2675-2679.2000
205. Webber M. A. and Piddock L. J. V., 2003. "The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51: 9–11. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg050>
206. Webber M.A., Whitehead R. N., Mount M., Loman N.J., Pallen M.J., and Piddock L. J. V., 2015. "Parallel evolutionary pathways to antibiotic resistance selected by biocide exposure." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 70 (8) 2241–48. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv109>

-
207. Weingarten R.A., Johnson R.C., Conlan S., Ramsburg A. M., Dekker J. P., Lau A. F., Khil P., et al. 2018. “Crossm genomic analysis of hospital plumbing reveals diverse reservoir of bacterial plasmids conferring carbapenem resistance.” *mBio* 9 (1) : 1–16. Doi : 10.1128/mBio.02011-17
208. Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., Lane, D. J., 1991. “16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study”. *Journal of bacteriology*, 173(2), 697-703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
209. WHO. 2017. “Critically Important Antimicrobials for Human Medicine.”
210. Wright G. D., Sutherland A.D., 2007. “New strategies for combating multidrug-resistant bacteria.” *Trends in Molecular Medicine*, 13(6) 260-267.<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.04.004>
211. Wu K., Wang F., Sun J., Wang Q., Chen Q., Yu S., and Rui Y., 2012. “ Class 1 integron gene cassettes in multidrug-resistant gram-negative bacteria in southern China.” *International Journal of Antimicrobial Agent* 40 (03) 264–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.05.017>
212. Xiong, J., Déraspe, M., Iqbal, N., Ma, J., Jamieson, F. B., Wasserscheid, J., ... & Roy, P. H., 2016. “Genome and plasmid analysis of bla IMP-4-carrying *Citrobacter freundii* B38”. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(11), 6719-6725. <https://doi.org/10.1128/AAC.00588-16>.
213. Yagoubat M., Ould El-hadj-khelil A., Malki A., Bakour S., Touati A., and Rolain J.m., 2016. “Genetic characterisation of carbapenem - resistant Gram - negative bacteria isolated from the university hospital Mohamed Boudiaf in Ouargla, southern Algeria.” *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 8 (3) 55-59.<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.10.008>
214. Yezli S., Barbut F., Otter J. A., 2014. “Surface contamination in operating rooms : a risk for transmission of pathogens ?” *Surgical Infections* 15 (6) 694–99. <https://doi.org/10.1089/sur.2014.011>
215. Yousfi K., Touati A., Lefebvre B., Garneau P., Brahmi S., Gharout-sait A., Harel A., and Bekal S. 2019. “Characterization of multidrug-resistant Gram-negative bacilli isolated from hospitals effluents : first report of a bla OXA-48 -like in *Klebsiella*.” *Brazilian Journal of Microbiology* 50 : 175–83.<https://doi.org/10.1007/s42770-018-0010-9>

-
216. Yousif-Jomha M., Yusef H., and Holail H., 2014. “Antimicrobial and biocide resistance of bacteria in a lebanese tertiary care hospital.” *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2 (4) : 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.09.001>
217. Yum J.H., Yi K., Lee H., Yong D., Lee K., Kim J. M., Rossolini G. M., and Chong Y., 2002. “Molecular characterization of metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea : Identification of two new integrons carrying the blaVIM-2 gene cassettes.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 495 (5) 837–40. Doi : 10.1128 /AAC.01624-09
218. Zenati K., Sahli F., and Garcia V., 2017. “Occurrence and clonal diversity of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* recovered from inanimate surfaces in algerian hospital environment : first report of *armA*, *qnrB* and *aac (6')-Ib-cr* genes.” *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10:148-153. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.05.015>
219. Zenati K., Touati A., Bakour S., Sahli F., and Rolain J. M., 2016. “Characterization of NDM-1- and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in a hospital environment in Algeria.” *Journal of Hospital Infection*.92(1) 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.09.020>
220. Zhao W.H., Chen G., Ito R., Kimura S., and Hu Z.Q., 2012. “Identification of a plasmid-borne *bla*_{IMP-11} gene in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*.” *Journal of Medical Microbiology* 61: 246–51. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.035626-0>



Annexs

Annexe 01 : Milieux de culture utilisés

Gélose Mac Conkey :

Composition :

- Peptone de caséine 7g
- Peptone de viande 3g
- Lactose 10g
- Mélange de sels biliaires 1.5g
- Chlorure de sodium 5.0

- Rouge neutre 0.03g

- Cristal violet 0.001g
- Agar agar 13.5g

pH final 7,1

Gélose Mueller-Hinton :

Composition :

- Infusion de viande de boeuf 3g
- Hydrolysate de caséine 17.5g
- Amidon 1.5g
- Gélose 17g

pH final 7,4

TSB (Bouillon Tryptone Soja)

Composition :

- Peptone 20g
- Glucose 2.5g
- NaCl 5 g
- K₂HPO₄ 2.5g

Annexe 02 : Solutions tampons

Tampon TBE 5X (pH8,3)

Tris base 54g

Acide borique 27,5g

EDTA 0,5M 2ml

Eau distillée qsp 1L

Tampon de charge

Glycérol 3ml

Bleu de bromophénol 75mg

Eau distillée 7ml

Annexe : 03 Mix de PCR

Composition

- Eau ultra pure 35,5 μ L
- Amorces 2,5 μ L
- dNTPs 6 μ L
- Tampon 5 μ L
- $MgCl_2$ 0,75 μ L
- Taq 0,2 μ L

Annexe 04 : Kit de purification des produits de PCR

ExoProStar 1-Step

Composition

- Exonucléase I
- Phosphatase alcaline
- 10mM Tris-HCl (pH 7,5)
- 10mM HEPES-NaOH (pH 7,5)
- 0,05mM EDTA
- 0,5DTT
- 0,5mM MgCl₂
- 0,5 Mm ZnCl₂
- 50% (V/V) glycérol

Protocole recommandé

- Retirez le tube de ExoProStar 1-Step du congélateur et garder dans la glace
- Mélangez 5µl du produit de PCR à 2 µl du ExoProStar 1-Step
- Incubez à 37°C pour 15 minutes
- Incubez à 80°C pour 15 minutes afin d'inactiver les enzymes

Annexe 5 : Les concentrations des extraits d'ADN obtenus par le Nanodrop

Souche	Concentration	Souche	Concentration
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb01	4.5	<i>Enterobacter cancerogenus</i> zb01	111.6
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb02	11.5	<i>Enterobacter cloacae</i> zb01	461.8
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb03	7.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb02	17.6
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb04	44.3	<i>Enterobacter cloacae</i> zb03	18.5
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb05	44.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb04	57.5
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb06	10.8	<i>Enterobacter cloacae</i> zb05	15.1
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb07	16.3	<i>Enterobacter cloacae</i> zb06	47.6
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb08	546.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb07	31.3
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb09	8	<i>Enterobacter cloacae</i> zb08	11.2
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb10	3.8	<i>Enterobacter cloacae</i> zb09	85.1
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb11	4.5	<i>Enterobacter cloacae</i> zb10	11.7
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb12	8.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb11	1354.2
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb13	5.1	<i>Enterobacter cloacae</i> zb12	32.3
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb14	55.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb13	24
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb15	16.6	<i>Enterobacter cloacae</i> zb14	16.8
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb16	29.5	<i>Enterobacter cloacae</i> zb15	26.4
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb17	17	<i>Enterobacter cloacae</i> zb16	76.5
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb18	34.1	<i>Enterobacter cloacae</i> zb17	192.5
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb19	30.6	<i>Enterobacter cloacae</i> zb18	74.9
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb20	38.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb19	26.6
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb21	52.5	<i>Enterobacter cloacae</i> zb20	25.8
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb22	0.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb21	40.2
<i>Acinetobacter baumannii</i> zb23	27	<i>Enterobacter cloacae</i> zb22	40.2
<i>Citrobacter freundii</i> zb01	18.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb23	280.4
<i>Citrobacter freundii</i> zb02	49.3	<i>Enterobacter cloacae</i> zb24	64.8
<i>Citrobacter freundii</i> zb03	17	<i>Enterobacter cloacae</i> zb25	20.1
<i>Citrobacter freundii</i> zb04	5	<i>Enterobacter cloacae</i> zb26	245
<i>Citrobacter freundii</i> zb05	10.1	<i>Enterobacter cloacae</i> zb27	31.8
<i>Citrobacter freundii</i> zb06	29.1	<i>Enterobacter cloacae</i> zb28	56.2
<i>Citrobacter freundii</i> zb07	27.4	<i>Enterobacter cloacae</i> zb29	23.6
<i>Citrobacter freundii</i> zb08	18.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb30	33.7
<i>Citrobacter freundii</i> zb09	11.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb31	33.8
<i>Citrobacter spp</i> zb01	34.5	<i>Enterobacter cloacae</i> zb32	118/2
<i>Citrobacter spp</i> zb02	19.8	<i>Enterobacter cloacae</i> zb33	33.7
<i>Escherichia coli</i> zb01	20,1	<i>Enterobacter cloacae</i> zb34	351.9
<i>Escherichia coli</i> zb02	12.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb35	82.6
<i>Escherichia coli</i> zb03	9.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb36	23.8
<i>Escherichia coli</i> zb04	7.9	<i>Enterobacter cloacae</i> zb37	60.2
<i>Escherichia coli</i> zb05	8	<i>Enterobacter cloacae</i> zb38	58.9
<i>Escherichia coli</i> zb06	42.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb39	9.6
<i>Escherichia coli</i> zb07	19.8	<i>Enterobacter cloacae</i> zb40	38.4
<i>Escherichia coli</i> zb08	432.7	<i>Enterobacter cloacae</i> zb41	32.3
<i>Escherichia coli</i> zb09	5.3	<i>Enterobacter cloacae</i> zb42	7.9

<i>Escherichia coli</i> zb10	19	<i>Enterobacter cloacae</i> zb43	998.1
<i>Escherichia coli</i> zb11	14.3	<i>Enterobacter cloacae</i> zb44	5.9
<i>Escherichia coli</i> zb12	19.2	<i>Enterobacter cloacae</i> zb45	44.4
<i>Escherichia coli</i> zb13	1352.4	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb01	96.4
<i>Escherichia coli</i> zb14	19.8	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb02	17.6
<i>Escherichia coli</i> zb15	30	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb03	124.6
<i>Escherichia coli</i> zb16	37.4	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb04	41
<i>Escherichia coli</i> zb17	137	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb05	1056.1
<i>Escherichia coli</i> zb18	64.9	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb06	71.3
<i>Escherichia coli</i> zb19	459	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb07	189.4
<i>Escherichia coli</i> zb20	1700.8	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb08	64
<i>Escherichia coli</i> zb21	25.1	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb09	50.4
<i>Escherichia coli</i> zb22	56.2	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb10	61.6
<i>Halomonas sp</i> zb01	31.5	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb11	27.6
<i>Klebsiella oxytoca</i> zb01	37.5	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb12	61.1
<i>Klebsiella oxytoca</i> zb02	133.2	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb13	53.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb01	291.3	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb14	6.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb02	47.2	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb15	45.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb03	116.2	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb16	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb04	59.9	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb17	12.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb05	1593.5	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb18	251.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb06	32	<i>Enterobacter hormaeche</i> zb18	7.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb07	13	<i>Enterobacter sakazakii</i> zb01	12.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb08	19.1	<i>Enterobacter sp</i> zb01	83.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb09	979.7	<i>Enterobacter sp</i> zb02	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb10	11.9	<i>Enterobacter sp</i> zb03	111.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb11	384.4	<i>Enterobacter sp</i> zb04	461.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb12	4.5	<i>Enterobacter sp</i> zb05	17.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb13	11.5	<i>Enterobacter sp</i> zb06	18.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb14	7.9	<i>Enterobacter sp</i> zb07	57.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb15	44.3	<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb01	15.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb16	44.9	<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb02	47.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb17	10.8	<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb03	31.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb18	16.3	<i>Enterobacter xiangfangensis</i> zb04	11.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb19	546.9	<i>Leclercia sp</i> zb01	85.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> zb20	8	<i>Morganella morganii</i> zb01	11.7
<i>Klebsiella spp</i> zb01	3.8	<i>Morganella morganii</i> zb02	1354.2
<i>Halomonas sp</i> zb01	4.5	<i>Morganella morganii</i> zb03	32.3
<i>Klebsiella oxytoca</i> zb01	8.9	<i>Pantoea dispersa</i> zb01	24
<i>Klebsiella oxytoca</i> zb02	5.1	<i>Pantoea gaviniae</i> zb01	16.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb01	55.2	<i>Pantoea sp</i> zb01	26.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb02	16.6	<i>Serratia marcescens</i> zb01	76.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb03	29.5	<i>Serratia marcescens</i> zb02	192.5

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb04	17	<i>Serratia marcescens</i> zb03	74.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb05	34.1	<i>Serratia marcescens</i> zb01	26.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb06	30.6	<i>Serratia marcescens</i> zb02	25.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb07	38.2		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> zb01	52.5		

ملخص

إن بيئة المستشفى عبارة عن خزان ضخم من العصيات سالبة الجرام المقاومة لمضادات الميكروبات والتي يمكن أن تصل إلى المرضى وتسبب التهابات خطيرة. كان الهدف من هذه الدراسة هو استكشاف العلاقة المحتملة بين مقاومة المضادات الحيوية وتحمل المبيدات الحيوية في العصيات سالبة الجرام المعزولة من مركز المستشفى الجامعي لتلمسان.

تضمنت هذه الدراسة 175 عزلة إكلينيكية من العصيات سالبة الجرام، وهي تهدف إلى استكشاف: مستوى ومقاومتها للمضادات الحيوية، وتحملها للمبيدات الحيوية بالإضافة إلى تحديد الدعامات الجينية لهذه المقاومة. تم عزل السلالات المدروسة من أسطح مختلفة في غرف العمليات في ثلاثة أقسام (قسم الاستجالات، قسم الجراحة أ، قسم جراحة العظام).

كان الجنس البكتيري الأكثر انتشارًا هو *Enterobacter*، يليه جنس *Acinetobacter*، وكانت جميع العزلات تحتوي على الأقل على واحد من الجينات المدروسة مع قدرة عالية المقاومة. تظهر نتائجنا في بعض الحالات وجود علاقة إيجابية محتملة بين وجود الجينات لتحمل المبيدات الحيوية وتلك المقاومة للمضادات الحيوية. في الواقع، يمكن أن يكون تحمل المبيدات الحيوية أحد العوامل في الاختيار المشترك لمقاومة المضادات الحيوية.

يجب أن تشجع نتائج الدراسة الحالية الممارسة الجيدة لتدابير النظافة وكذلك الاستخدام الرشيد لمضادات الميكروبات من أجل إعاقة تطور وظهور المقاومة في أقسام مستشفياتنا.

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية، العصيات سالبة الجرام، المبيدات الحيوية، بيئة المستشفى، المقاومة.

Résumé

L'environnement hospitalier constitue un immense réservoir de bacilles à Gram négatif résistants aux antimicrobiens qui peuvent ainsi atteindre les patients et provoquer de graves infections.

L'objectif de cette étude a été d'explorer la possible corrélation entre la résistance aux antibiotiques et la tolérance aux biocides chez les bacilles à Gram négatif isolés du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen.

Cette étude a porté sur 175 isolats cliniques de bacilles à Gram négatif, il s'agit d'explorer : leur niveau et leur profil de résistance aux antibiotiques, leur tolérance aux biocides ainsi que la mise en évidence des supports génétiques de cette résistance. Les souches étudiées ont été isolées à partir de différentes surfaces au niveau des blocs opératoire de trois services (UMC, CHA, TRM).

Enterobacter spp. a été le genre bactérien le plus prédominant suivi du genre *Acinetobacter*, tous les isolats ont hébergé au moins un des gènes étudiés avec une capacité importante de résistance. Nos résultats montrent dans certains cas une possible corrélation positive entre la présence de gènes de tolérance aux biocides et ceux de la résistance aux antibiotiques ; en effet la tolérance aux biocides pourrait être un des facteurs de la co-sélection de la résistance aux antibiotiques.

Les résultats de la présente étude doivent inciter à la bonne pratique des mesures d'hygiène ainsi qu'à l'utilisation rationnelle des antimicrobiens afin d'entraver le développement et l'émergence de la résistance au niveau de nos services hospitaliers.

Mots clés : Antibiotiques, Bacilles à Gram négatif, Biocides, Environnement hospitalier, Résistance.

Abstract

The hospital environment is a huge reservoir of antimicrobial resistant Gram-negative bacilli that can reach patients and cause serious infections.

The objective of this study was to explore the possible correlation between antibiotic resistance and biocide tolerance in Gram-negative bacilli isolated from the Tlemcen University Hospital Center.

This study involved 175 clinical isolates of Gram-negative bacilli, it is to explore their level and profile of resistance to antibiotics, their tolerance to biocides as well as the identification of genetic supports for this resistance. The strains studied were isolated from different surfaces in the operating theaters of three departments (UMC, CHA, TRM).

Enterobacter spp. was the most predominant bacterial genus followed by the genus *Acinetobacter*; all isolates harbored at least one of the genes studied with a significant capacity for resistance. Our results show in some cases a possible positive correlation between the presence of genes for tolerance to biocides and those for resistance to antibiotics; in fact, tolerance to biocides could be one of the factors in the co-selection of resistance to antibiotics.

The results of the present study should encourage the good practice of hygiene measures as well as the rational use of antimicrobials in order to hamper the development and emergence of resistance in our hospital services.

Keywords: Antibiotics, Gram-negative bacilli, Biocides, Hospital environment, Resistance.