

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine : SNV**      **Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Analyses Biologiques et Biochimiques**

**Présenté par :**

***MAMERI Said***

***Thème***

***Bactéries multirésistantes dans l'environnement  
Recherche dans les eaux usées  
de la ville de Bouira***

**Soutenu le : 29 / 06 / 2017**

**Devant le jury composé de :**

<b><i>Nom et Prénom</i></b>	<b><i>Grade</i></b>		
<i>M. KADRI A.</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. MEDBOUA C.</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. CHERGUI A.</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

**Année Universitaire : 2016/2017**

*Je dédie le présent travail :*

*A ma femme ; Sonia ,*

*A mes enfants ; Sophia et Lysa.*

*Je dédie également ce travail :*

*À toutes celles et à tous ceux qui souffrent dans le silence, souvent par la faute des autres, et demeurent dignes face à l'adversité et à toute épreuve.*

*Aux victimes de l'ignorance et de la bêtise humaine...*

*Saïd Mameri*

## **Remerciements**

Je voudrais rendre hommage à ma femme et mes enfants de m'avoir encouragé à reprendre le chemin de l'université et pour leur soutien tout au long de ma formation, sans quoi le présent travail scientifique n'aurait jamais vu le jour.

Je veux souligner particulièrement la contribution de mon enseignante et promotrice Madame Chafiaa Medboua. Je tiens à la remercier de m'avoir fourni un encadrement scientifique et les facilités matérielles nécessaires à mon projet d'étude. Ses ouvrages, ses conseils, sa forte présence et ses encouragements ont été très appréciés mais, surtout, déterminants. Je lui exprime toute ma gratitude.

J'exprime toute ma reconnaissance à mes enseignants M. Kadri N. et M. Chergui A. de m'avoir honoré en acceptant de présider le jury et d'examiner le présent travail.

Je suis également redevable aux professeurs, au personnel et la communauté estudiantine de la Faculté SNV - Département de Biologie pour leur contribution à ma formation. A toutes et à tous, merci.

Je n'omettrais pas de remercier le personnel, en particulier les cadres de la STEP de la ville de Bouira ; je veux nommer M. Noual M. et M. Noual A. de m'avoir permis de réaliser une partie de cette étude dans des conditions agréables.

Mes remerciements à M. Saraoui H. de m'avoir assisté dans la traduction documentaires.

Je remercie, en fin, les anonymes pour leur soutien même silencieux mais, ...sincère!

# SOMMAIRE

---



---

## SOMMAIRE

**Liste des abréviations****Liste des tableaux****Liste des figures****Liste des annexes****Introduction.....1****Partie I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE****LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES**

I- Les antibiotiques dans l'environnement.....	3
1. Généralités .....	3
2. Les antibiotiques dans les eaux usés.....	4
II- La résistance aux antibiotiques dans l'environnement.....	4
1. Généralités .....	4
2. Sources et mouvements des gènes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans l'environnement.....	5
3. Supports génétiques et mobilité de la résistance aux antibiotiques.....	5
III. Les eaux usées et la résistance aux antibiotiques.....	6
1. La résistance aux antibiotiques dans les STEPs.....	6
2. Impact des STEPs sur le transfert d'éléments génétiques conférant la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	7
3. Conséquences de la pollution aux antibiotiques et de la résistance bactérienne.....	7
IV. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	8
1. Mécanismes non enzymatiques.....	8
2. Mécanisme enzymatique.....	10
V- Les bactéries multi-résistantes.....	12
1. Les bacilles à Gram négatif.....	12
2. Les <i>Staphylocoques</i> .....	17
3. Les Entérocoques.....	18

**Partie II : ETUDE EXPERIMENTALE****MATERIELS ET METHODES**

I. Présentation de la zone d'étude : STEP-ville de Bouira.....	20
1- Description .....	20
2. Objectifs de traitement et caractéristiques de conception.....	20
3. Description du procès épuratoire.....	21
II-Prélèvement.....	24
III-Analyse physico-chimique.....	24
IV-Analyse microbiologique .....	24
1. Mise en culture et enrichissement.....	24
2. Isolement et purification.....	25
3. Identification des souches bactériennes.....	25
4. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques.....	26
5. Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) par le test de synergie (DD-test)....	27
6. Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) par le test de Hodge.....	27

**Partie III : RESULTATS ET DISCUSSION**

I. Prélèvements.....	29
II. Analyse physico-chimiques des échantillons.....	29
III. Isolement et identification des souches.....	29
IV. Résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques.....	31
IV.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines.....	31
IV.2. Résistance aux autres familles d'antibiotiques.....	32
V. Résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques .....	33
V.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines.....	33
V.2. Résistance aux autres familles d'antibiotiques.....	34
VI. Analyse des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines par le test de synergie (DD-test).....	34
VII. Recherche de la production des carbapénèmases par le test de Hodge.....	35
VIII. Discussion générale.....	36

<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

### Liste des abréviations

**AmpC**: Chromosomal located céphalosporinase

**ATB** : Antibiotique

**ATBM** : Antibiogramme

**BLSE**:  $\beta$ -lactames à spectre étendu

**BMR** : Bactéries multi résistantes

**CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**C1G** : Céphalosporines de 1<sup>re</sup> génération

**C2G** : Céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération

**C3G** : Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération

**C4G** : Céphalosporines de 4<sup>ème</sup> génération

**CAZ** : Céftazidime

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CO** : Carbone organique

**CTX-M** : Céphotaximase – Munich

**CTX-M**: Cefotaximase, first isolated at Munich

**DBO5** : Demande biochimique en oxygène pendant 5 jours

**DCO** : Demande chimique en oxygène

**DD-test** : Double disque test

**EDTA**: Ethylenediamine tetra acetic acid

**EGM** : Éléments génétiques mobiles

**ERV** : Entérocoques résistants à la vancomycine

**GN** : Gélose nutritive

**LPS:** Lipopolysacchadides

**MES :** Matière en suspension

**MH :** Mueller Hinton

**MO :** Matière organique

**MS :** Matière sèche

**NPP:** Nombre le plus probable

**OMS:** organisation mondiale de la santé

**OXA:** Oxacillinase

**PCR:** Polymérase Chain Reaction

**PLP:** Protéine de liaison aux pénicillines

**R:** Résistant

**S :** Sensible

**SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

**STEP :** Station de traitement et d'épuration des eaux usées

**TEM:** Temoniera

**TSI:** Tri Suger Iron

**UFC:** Unité Formant colonie

**VAN :** Vancomycine



## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma descriptif du procès épuratoire des eaux usées au niveau de la STEP-Ville de Bouira (ONA-Bouira, 2013).....	23
<b>Figure 2</b> : Station de relevage n° 2-STEP de la ville de Bouira: Prélèvement d'eau usée.....	24
<b>Figure 3</b> : Souches de bacilles à Gram négatif isolées sur milieu Mac Conkey.....	29
<b>Figure 4</b> : Galerie biochimique du genre <i>Klepsiella</i> .....	30
<b>Figure 5</b> : Répartition des souches bactériennes isolées.....	30
<b>Figure 6</b> : Taux de résistance vis-à-vis des $\beta$ -lactamines.....	32
<b>Figure 7</b> : Taux de résistance vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques.....	33
<b>Figure 8</b> : Test de sensibilité aux antibiotiques.....	33
<b>Figure 9</b> : Exemple de DD-test négatif.....	35
<b>Figure 10</b> : Exemple de Test de Hodge positif sur milieu Mac Conkey.....	35

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Objectifs de traitement (ONA-Bouira, 2013).....	20
<b>Tableau II:</b> Caractéristiques de conception (ONA-Bouira, 2013).....	21
<b>Tableau III :</b> Mise en culture et enrichissement.....	25
<b>Tableau IV :</b> Liste des antibiotiques testés.....	26
<b>Tableau V:</b> Répartition des souches par espèces.....	31
<b>Tableau VI :</b> Taux de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis des $\beta$ -Lactamines.....	34
<b>Tableau VII:</b> Taux de résistance des souches de <i>P. aeruginosa</i> vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques.....	34

## Liste des annexes

### **Annexe 1**

Concentration des antibiotiques dans les eaux usées (Kim et al., 2007)

### **Annexe 2**

Composition des réactifs et des milieux de culture (Le Minor et Richard, 1993)

### **Annexe 3**

Résultats d'analyses des paramètres physicochimiques des eaux usées -Avril et mai 2017 (ONA-Bouira, 2017)

### **Annexe 4**

Résultats des Tests d'isolement des souches bactériennes

### **Annexe 5**

Résultats des tests biochimiques des souches de bacilles à Gram négatif isolées

### **Annexe 6**

Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour les entérobactéries (CA-SFM, 2017)

### **Annexe 7**

Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour les *Pseudomonas* (CA-SFM, 2017)

### **Annexe 8**

Résultats des diamètres de résistance des bacilles à Gram négatif aux  $\beta$ -lactamines

### **Annexe 9**

Résultats des diamètres de résistance des bacilles à Gram négatif aux autres familles d'antibiotiques

# **INTRODUCTION**

## Introduction

La problématique de la multirésistance bactérienne aux antibiotiques est plus que jamais d'actualité. Elle demeure entière et risque de s'aggraver si des médications alternatives ne viennent pas urgemment y remédier.

En effet, la résistance aux antibiotiques a été, et demeure à présent, la conséquence de l'utilisation abusive et de la mauvaise utilisation de ces composés dans la médecine humaine et vétérinaire, mais aussi en tant que facteurs de croissance pour les animaux d'élevage (Schluter et *al.*, 2007 ; Tamtam et *al.*, 2008). D'ailleurs, c'est ainsi que des résidus d'antibiotiques peuvent être retrouvés dans les effluents d'eaux usées, notamment celles provenant des hôpitaux, des usines de production pharmaceutique, des fermes et autres bâtiments d'élevage (Sabate et *al.*, 2008).

Par ailleurs, la dissémination de souches résistantes, voire multirésistantes, et l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance, notamment les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi, posent de sérieux problèmes au monde médical actuel. Cette accumulation de mécanismes de résistance est devenue problématique, car elle conduirait à une impasse thérapeutique en raison de l'émergence de souches dites totorésistantes vis-à-vis du panel d'antibiotiques actuellement disponibles sur le marché (Medboua, 2010). Les problèmes posés et les conséquences engendrées se manifestent à trois niveaux : Thérapeutique pour le clinicien qui doit prescrire un antibiotique efficace et éviter la sélection de mutants résistants ; microbiologique, car certaines résistances sont difficiles à détecter au laboratoire et nécessitent la mise en œuvre de méthodes spécifiques ( $\beta$ -lactamases à spectre élargi) et enfin, épidémiologique pour les équipes du contrôle de l'infection qui doivent limiter la dissémination des souches résistantes.

Etant le réceptacle des bactéries et des antibiotiques, la station de traitement et d'épuration des eaux usées (STEP) peut, d'une part, constituer un endroit idéal pour le transfert des gènes de résistance et à l'émergence de bactéries résistantes (Tafoukt, 2011), et d'autre part, être l'ultime rempart avant le rejet des bactéries résistantes dans l'environnement, et ce, du fait qu'elle soit l'interface entre les activités humaines et l'environnement immédiat. D'où l'importance, voire la nécessité d'une maîtrise des paramètres et autres facteurs précurseurs de la résistance bactérienne.

Au niveau local, le manque de données, ainsi que de travaux effectués sur la présente thématique, nous ont encouragés à engager notre travail en guise d'ébauche à la problématique relative à la résistance bactérienne aux antibiotiques dans notre l'environnement. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui consiste à isoler, puis identifier, à partir des eaux usées de la ville de Bouira, des souches bactériennes multirésistantes (BMR) aux antibiotiques. Elle a pour but d'évaluer, globalement, la place des BMR et de déterminer leurs profils de résistance au sein des genres bactériens concernant les Staphylocoques, les bacilles à Gram négatif et enfin, les Entérocoques.

Dans ce travail, l'isolement des souches a été réalisé à partir des eaux usées collectées au niveau de la STEP de la ville de Bouira. Pour ce faire, nous avons organisé notre méthodologie de travail selon les étapes successives suivantes:

- Isolement des souches bactériennes au niveau de la STEP de la ville de Bouira ;
- Purification, puis identification des souches isolées ;
- Etude de la sensibilité des espèces identifiées vis-à-vis des antibiotiques ;
- Caractérisation phénotypique de quelques mécanismes de résistance en cause.

Parallèlement aux analyses ci-dessus décrites, nous avons procédé au dosage des paramètres physico-chimiques des eaux usées prélevées.

**PARTIE I**

**SYNTHESE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

### I- Les antibiotiques dans l'environnement

#### 1. Généralités

L'utilisation des antibiotiques est multiple. Outre le domaine thérapeutique humain, elle intervient dans le traitement des maladies et la production alimentaire de croissance des animaux, ainsi que dans le traitement prophylactique des végétaux. En conséquence de quoi, les effets des antibiotiques dépassent largement leur champ d'intervention et c'est ainsi que les antibiotiques d'infiltrant dans les eaux usées et des eaux souterraines, comme ils peuvent dériver par voie aérienne (Allen et *al.*, 2010).

Sur le plan de l'investigation, des études menées dans certains pays ont révélé la présence d'antibiotiques à des concentrations de l'ordre de microgramme ou nanogramme par litre. Les différents sites environnementaux ciblés concernent des eaux usées municipales, effluents d'hôpitaux et ceux des usines de traitement des eaux usées, eaux de surface et même certaines eaux souterraines. Les composés détectés appartiennent à différentes classes d'antibiotiques, telles que les quinolones, macrolides, tétracyclines et sulfamides (Kümmerer, 2004).

En dépit du fait que les  $\beta$ -lactamines ne soient pas persistants dans l'environnement, ils ont tout de même été détectés dans les stations de traitements des eaux usées. Toutefois, de nombreux antibiotiques ne sont pas éliminés, à l'instar de méropenème, céfotiamé ou nitrothiazole, d'autres comme les quinolones et fluoroquinolones sont peu biodégradables : la ciprofloxacine présente dans des eaux de fleuves est dégradée complètement au bout de trois mois, alors que seulement 20% de l'acide oxolinique sont dégradés après 05 mois. On montré aussi que la fixation des quinolones au sol et aux sédiments tarde leur biodégradation, néanmoins le traitement des eaux usées élimine efficacement les quinolones par la voie, outre celle de la biodégradation, de la photodégradation (Martinez, 2009).

Les concentrations élevées d'antibiotiques trouvés dans les eaux usées et les sols traités avec du fumier sont circonscrites dans les zones où il ya de l'activité humaine, à contrario, ces concentrations sont faibles dans les environnements vierges. Suite à quoi, les évaluations des risques prennent en compte les domaines ayant des charges élevées en antibiotiques et contenant des microorganismes associés à l'homme pour analyser l'effet de la pollution due aux antibiotiques sur les écosystèmes naturels (Martinez, 2009).



## 2. Les antibiotiques dans les eaux usées

Les agents antimicrobiens utilisés en thérapies humaine, animale et végétale ainsi que leurs résidus atteignent les systèmes d'égouts. Leurs concentrations dans les eaux usées, bien que nettement inférieures aux doses thérapeutiques, sont soupçonnées d'affecter les bactéries sensibles et de sélectionner des souches résistantes (Quczkiwicz et al., 2010).

Le dosage des antibiotiques dans les effluents (en amont) et dans les eaux usées traitées dans une station de traitement et d'épuration (en aval) montre que des concentrations en antibiotiques ont été constatées dans ces dernières (annexe 1), ce qui suggère qu'il n'y a qu'une élimination partielle d'antibiotiques dans les STEP. Malgré ces faibles concentrations, leur apport continu à ces dernières soulève des préoccupations quant à leurs potentiels effets indésirables écologiques et leur contribution au développement de la résistance aux agents antimicrobiens, influant ainsi sur la santé, notamment humaine (Kim et Aga, 2007).

## II- La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

### 1. Généralités

En pathologie humaine, les bactéries résistantes aux antibiotiques sont surtout les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM), et les *Pseudomonas* multirésistants.

Concernant les causes de cette résistance, l'accent est mis sur l'utilisation abusive d'antimicrobiens dans les hôpitaux et les élevages (Kümmerer, 2004).

Des études indiquent que des bactéries phytopathogènes, résistantes au cuivre et/ou à la Streptomycine, ont été isolées des cours d'eau même loin des zones agricoles et où ces cours d'eau ne sont pas utilisés pour l'irrigation des cultures (Vanneste et al., 2008). Des souches d'*E.coli* résistantes aux antibiotiques ont été fortement retrouvées dans les eaux souterraines rurales.

Même si l'origine exacte de la résistance n'a pas été déterminée, les eaux de ruissellement du fumier dans les fermes ou des fuites d'eaux usées provenant des fosses septiques constitueraient des voies claires d'entrée des bactéries résistantes dans les eaux souterraines (Kümmerer, 2004).

## 2. Sources et mouvements des gènes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans l'environnement

Il est généralement reconnu que l'environnement naturel abrite une grande diversité de gènes de résistance aux antibiotiques (Aminov, 2009). Les gènes de résistance existent naturellement dans l'environnement grâce aux pressions de sélection exercées dans la nature. L'homme a appliqué une pression de sélection supplémentaire sur les gènes de résistance aux antibiotiques en raison des grandes quantités d'antibiotiques que nous produisons, consommons et utilisons en médecine et en agriculture. Les forces physiques et biologiques causent une large diffusion des gènes de résistance à travers de nombreux environnements (Allen et al., 2010).

Le transfert des gènes de *Streptomyces* à d'autres microorganismes du sol potentiellement pathogène pour l'homme a été montré pour un transfert vers une mycobactérie atypique. On peut aussi imaginer qu'il y a ingestion de microorganismes du sol porteurs de gènes de résistance par des animaux, puis transfert de ces gènes à des bactéries peuplant les écosystèmes animaux, puis passage chez celui-ci avec l'alimentation. Des gènes de résistance pourraient être aussi administrés à l'homme avec certaines préparations antibiotiques où ils ont été retrouvés. (Kim et al., 2007)

## 3. Supports génétiques et mobilité de la résistance aux antibiotiques

Ordinairement, il est supposé que la propagation rapide des déterminants de la résistance aux antibiotiques chez les souches bactériennes est en rapport avec la présence et les propriétés des éléments mobiles. On a considéré, dans un premier temps, que ces éléments étaient des plasmides et des transposons retrouvés dans plusieurs groupes systématiques bactériens. Plus tard, des transposons conjugatifs ont été détectés et leur rôle dans le transfert de gènes entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif a été étudié. Cependant, les principaux mécanismes de l'apparition de la résistance des bactéries aux antibiotiques et leur émergence étendue ont été clarifiés seulement ces dernières années, suite à la découverte d'intégrons et l'analyse de leur structure (Mindlin et al., 2009).

Les divers types d'entités (plasmides, transposons, intégrons et phages) sont susceptibles de diriger les transferts génétiques selon différents modes; les bactériophages avec la transduction, les transposons et les intégrons avec le déplacement et la capture de gènes, les plasmides transférables avec la conjugaison, ou encore la transformation par internalisation d'ADN libre extracellulaire (Sota et Top, 2008 ; Kelly et al., 2009).

### III. Les eaux usées et la résistance aux antibiotiques

#### 1. La résistance aux antibiotiques dans les STEPs

La dynamique des bactéries et des gènes codant pour la résistance aux antibiotiques dans les STEPs est actuellement peu connue. Ces stations reçoivent des bactéries qui sont déjà exposées aux antibiotiques provenant des ménages, hopitaux et animaleries. Elles sont considérées comme des points chauds pour le transfert horizontal de gènes à cause de leur richesse nutritionnelle et de la forte densité bactérienne (Tennstedt et *al.*, 2003 ; Schluter et *al.*, 2007). Des bactéries résistantes et multi-résistantes telles que *E.coli*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, sont présentes dans les eaux usées municipales. La résistance aux  $\beta$ -lactamines, aux quinolones, à la tétracycline et autres sulfamides a été constatée chez des bactéries retrouvées dans des eaux usées et des boues d'épuration du monde entier (Kümmerer, 2009).

Le nombre des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux usées est significativement plus élevé que dans l'environnement naturel. Des études effectuées en Allemagne ont mis en évidence la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les biofilms recueillis à partir des eaux usées des hôpitaux et des municipalités, l'eau des rivières et l'eau potable. Des entérocoques résistants à la vancomycine et des entérobactéries hydrolysant les  $\beta$ -lactamines ont été retrouvées dans les biofilms d'eaux usées que dans ceux des rivières ou d'eau potable. De même pour les gènes codant pour la résistance aux antibiotiques, tels que *vanA*, *mecA* et *ampC* (Schwartz et *al.*, 2003).

Le processus de traitement des eaux usées pourrait augmenter la proportion de bactéries résistantes à la sortie d'une STEP. Les processus biologiques sur la base des boues activées, en raison de la forte densité de cellules, sont considérés comme des facteurs favorisant la dissémination de la résistance chez les bactéries (Quczkiwicz et *al.*, 2010).

Les différences dans la conception des STEPs et de leur fonctionnement peuvent aussi influencer sur le sort des bactéries résistantes et des gènes de résistance aux antibiotiques dans les eaux usées. Ainsi, il a été évalué le sort des populations bactériennes résistantes à la tétracycline dans le processus biologique de traitement des eaux usées. Une augmentation de la charge organique et celle de la résistance est constatée, les deux aboutissent à l'amplification de la résistance à la tétracycline (Kim et *al.*, 2007).

## 2. Impact des STEPs sur le transfert d'éléments génétiques conférant la résistance bactérienne aux antibiotiques

Les stations d'épuration ont été reconnues comme un réservoir de bactéries résistantes aux antibiotiques et de gènes de résistance, y compris les plasmides codant pour la résistance aux antibiotiques, qui peuvent conférer une résistance à la plus part sinon toutes les classes d'antibiotiques cliniquement significatives, telles que les macrolides, les tétracyclines, les céphalosporines, les fluoroquinolones, les aminosides et les  $\beta$ -lactamines. L'accumulation de différents gènes de résistance aux antibiotiques sur des plasmides peut être augmentée dans l'environnement des STEPs (Rahube et Yost, 2010).

Au cours de ces dernières années, différents plasmides conjugatifs de multirésistance ont été obtenus à partir de stations d'épuration municipales. C'est ainsi que des plasmides codant pour la résistance à la gentamicine ont été isolés des eaux usées.

L'étude des connaissances acquises sur l'analyse génomique comparative complète de plasmides isolés à partir des bactéries des boues d'épuration et de plasmides isolés à partir des bactéries cliniques et d'autres environnements, fournit des preuves claires quant à l'échange génétique entre les bactéries pathogènes des humains, des animaux et des plantes, et les bactéries de l'environnement, y compris celles des eaux usées (Schluter et *al.*, 2007).

Le réservoir des éléments génétiques mobiles (EGM) de la résistance aux antibiotiques dans les stations d'épuration comprend les éléments conjugatifs transposables (transposants et séquences d'insertion) et les intégrons. La combinaison de ces éléments avec les plasmides conjugatifs forme un environnement où ces plasmides peuvent rapidement acquérir ces EGM via la transposition ou la recombinaison et deviennent des mosaïques de multiples éléments génétiques de la résistance (Rahube et Yost, 2010).

## 3. Conséquences de la pollution aux antibiotiques et de la résistance bactérienne

L'utilisation des antibiotiques à des fins cliniques ou de l'élevage sélectionne des microorganismes résistants. Il est donc prévisible que les résidus provenant des hôpitaux ou des fermes contiennent deux types de polluants : les antibiotiques et les gènes de résistance. Néanmoins, le sort des deux types de polluants est probablement différent. Plusieurs antibiotiques sont des composés naturels qui ont été en contact avec le microbiote de l'environnement des millions d'années durant et sont donc biodégradables et peuvent même servir de source de nutriments pour plusieurs microorganismes.

Les antibiotiques synthétiques, comme les quinolones, peuvent être plus réfractaires à la biodégradation. Toutefois, ils sont encore dégradés à des vitesses différentes dans des environnements naturels. Le processus de dégradation est lent à basse température en hiver, et la composition et l'humidité du sol ont clairement un impact sur la dégradation des antibiotiques. De plus, la libération constante d'antibiotiques dans les effluents hospitaliers et les résidus des fermes rend ces derniers constamment pollués, quelque soit la dégradation de l'antibiotique (Martinez, 2009).

Comme bactéries résistantes et gènes de résistance détectés dans des effluents hospitaliers et dans les eaux usées, on citera *vanA* et *mecA* pour les premiers, et *vanA*, *ampC*, gènes de résistance à la gentamicine, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Campylobacter spp.*, *E.coli*, *Pseudomonas spp.*, *Enterococci*. (Kummerer, 2004)

#### **IV. Mécanismes de résistance aux antibiotiques**

Afin de résister aux antibiotiques, les bactéries utilisent quatre principaux types de mécanismes, à savoir : la diminution ou la suppression de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie (impermeabilité), la modification de la cible bactérienne de l'antibiotique, l'efflux actif en dehors de la cellule bactérienne, et enfin, l'inactivation enzymatique (Tennstedt et al., 2003).

##### **1. Mécanismes non enzymatiques**

###### **1.1. Diminution de la perméabilité**

La membrane bactérienne externe agit comme une barrière sélective par la combinaison d'une bicouche lipidique très hydrophobe avec protéines, formant ainsi des pores ayant des propriétés et des dimensions spécifiques.

Dans un grand nombre d'espèces bactériennes, l'existence de résistance aux antibiotiques est due à des modifications dans les lipides ou les protéines qui composent la membrane, mettant en valeur l'importance que joue cette dernière dans la sensibilité aux antibiotiques.

Les médicaments hydrophiles tels que les  $\beta$ -lactamines, utilisent les porines pour accéder à l'intérieur de la cellule, pendant que les macrolides et d'autres médicaments hydrophobes diffusent à travers la bicouche lipidique (Delcour, 2009).

Le nombre de molécules de porines présentes conditionnera le passage des antibiotiques, d'où le lien étroit de la résistance par ce mécanisme avec la diminution ou la perte de porines (Pourriat et Martin, 2005).

Dans la pratique, plusieurs résultats ont montré la relation existante entre la porine et la sensibilité aux  $\beta$ -lactamines et aux fluoroquinolones. Les analyses d'isolats résistants aux antibiotiques (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*) ont révélé que la disparition des porines, associée à la production d'enzymes bactériennes, détruit le cycle  $\beta$ -lactame ( $\beta$ -lactamases), ce qui constitue un élément clé dans la résistance aux  $\beta$ -lactamines. La disparition d'une porine chez *Pseudomonas aeruginosa* a été rapportée dans le cas de la résistance à l'Imipenème (Pagès, 2004).

### 1.2. Modification de la cible

La cible cellulaire peut être modifiée par modification enzymatique ou par mutation, de manière à réduire l'affinité de l'antibiotique pour la cible. La résistance aux fluoroquinolones, par exemple, peut être effectuée par mutation dans la cible de l'antibiotique. Ces mécanismes sont spécifiques pour un seul antibiotique ou pour une classe entière d'antibiotiques. Quant à la cible, elle n'est, parfois, pas modifiée, mais la bactérie est capable de synthétiser une nouvelle cible résistante à l'antibiotique. Dans ce cas, on parle de substitution de cible (Guillemot et Leclercq, 2005).

### 1.3. Système d'efflux

Parmi les catégories majeures des transporteurs de la membrane bactérienne figurent les pompes d'efflux. Ce sont des protéines intégrantes de la membrane qui utilisent l'énergie cellulaire pour expulser activement des antibiotiques ou des toxines de la cellule, d'où la mise en évidence, surtout, de ce rôle de détoxification (Nishino et *al.*, 2009).

Par efflux actif, la résistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques est très répandue parmi les bactéries Gram négatif et exprimée dans la plus part des cas de façon modérée. Cependant, si plusieurs pompes sont co-exprimées ou face à une hyperexpression des gènes codant des transporteurs, elle peut atteindre un niveau élevé. Aussi, des associations entre l'efflux actif et les autres mécanismes de résistance existent. C'est le cas, par exemple, de la synergie entre l'efflux et des mutations dans les gènes des topoisomérases lors de la résistance aux fluoroquinolones de *Streptococcus*, dont l'exportation de ces derniers favoriserait la sélection de mutants par exposition à des concentrations insuffisantes de l'antibiotique (Cattoir, 2004).

## 2. Mécanisme enzymatique

C'est un mécanisme qui s'exprime par la production d'enzymes qui, à leur tour, inactivent les antibiotiques par hydrolyse ou par modification, ce qui aboutit à la formation de dérivés inactifs. On citera parmi les enzymes les plus connues les  $\beta$ -lactamases.

### 2.1. Les $\beta$ -lactamases

Ce sont des hydrolases qui catalysent l'hydrolyse irréversible de la liaison amide du cycle  $\beta$ -lactame, inactivant ainsi les  $\beta$ -lactamines. Elles peuvent être chromosomiques ou plasmidiques et produites d'une manière inductible ou constitutive, elles sont sécrétées dans l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif ou dans le liquide extracellulaire chez les bactéries à Gram positif (Essack, 2001).

Les  $\beta$ -lactamases sont réparties, selon leur mécanisme catalytique, en deux types : les sérines- $\beta$ -lactamases, utilisant un site actif à sérine pour hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame et les métallo- $\beta$ -lactamases, nécessitant la présence de  $Zn^{+2}$  (Jacoby et Bush, 2005).

#### 2.1.1. Production des $\beta$ -lactamases

A l'heure actuelle, la production des  $\beta$ -lactamases est le mécanisme de résistance prédominant des bactéries à Gram négatif *vis-à-vis* des  $\beta$ -lactamines. Au début des années 1980, seules quelques enzymes de type plasmidiques comme TEM-1, TEM-2 et SHV-1 étaient connues, mais rapidement après l'introduction des antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, sont apparues des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu ou BLSE. Depuis, les  $\beta$ -lactamases ne cessent de se diversifier, d'élargir leur spectre d'activité et leur diffusion parmi de nombreuses espèces d'entérobactéries, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* (Faure, 2009).

Les  $\beta$ -lactamases sont nommées selon leur substrat préféré (IMP, OXA), leur propriété biochimique (SHV), gènes (AmpC), bactéries (PSE), patients (TEM), hôpital (MIR), région (OHIO) et selon leurs auteurs (HMS). Des enzymes modifiées ont la même désignation en lettre, mais possèdent un chiffre différent, qui est affecté selon l'ordre de leur description (TEM-1, 2, 3, . . . etc) (Jacoby, 2006).

#### 2.1.2. Les $\beta$ -lactamases à spectre étroit de type TEM, SHV et OXA

Plusieurs  $\beta$ -lactamases plasmidiques ont été retrouvées chez les bacilles à Gram négatif. La plus connue chez les entérobactéries est la  $\beta$ -lactamase TEM-1 qui est responsable de la résistance à l'ampicilline observée chez environ 50% des souches d'*E. coli* (Livermore, 1995).

Les  $\beta$ -lactamases de type SHV ont longtemps été endémiques au genre *Klebsiella*, avec un profil de résistance similaire aux  $\beta$ -lactamases de type TEM (Roy, 2000).

Les enzymes OXA donnent généralement de faibles taux de résistance aux pénicillines avec des CMI pour l'ampicilline chez *E. coli* de l'ordre de 128 à 256  $\mu\text{g/ml}$  et celle des ureidopénicillines de 4 à 16  $\mu\text{g/ml}$ .

Les enzymes TEM-2, SHV-1 et OXA-1 sont aussi répandues chez les entérobactéries, mais sont moins fréquentes que TEM-1. Ces enzymes hydrolysent les céphalosporines de première génération, et toutes les pénicillines excepté la témocilline et n'ont pas d'activité apparente sur les nouvelles céphalosporines (céphalosporines de troisième et quatrième générations) (Livermore, 1995).

### 2.1.3. Les $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE ont aujourd'hui une répartition mondiale. Leur prévalence varie d'une région à une autre, d'une ville à une autre et même d'un hôpital à un autre. L'un des facteurs spécifiques de risque d'acquisition des BLSE chez les patients hospitalisés est la longue hospitalisation (Giske et al., 2009).

Jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées étaient des dérivés de TEM-1/2 et de SHV-1, après évolution de ces enzymes anciennes par mutation(s) ponctuelle(s). A partir de 1995, de nouvelles BLSE notamment les CTX-M ont émergé de façon rapide chez les entérobactéries. Contrairement aux BLSE de type TEM et SHV, les mécanismes de diffusion de CTX-M semblent plus complexes, mettant en jeu la diffusion des plasmides et/ou d'autres éléments génétiques. Les autres BLSE (ex PER, VEB) restent plus rares et sont principalement détectées chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter sp* (Cattoir, 2008).

### 2.1.4. Les carbapénèmases

Les carbapénèmes (imipénème, ertapénème et méropénème) sont aujourd'hui parmi les traitements de choix des infections sévères dues aux entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE), mais leur utilisation pourrait être compromise par l'émergence de souches de bactéries résistantes également aux carbapénèmes (Cuzon et al., 2010).



## V- Les bactéries multi-résistantes

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE) (Boukhatem, 2013)

### 1. Les bacilles à Gram négatif

Ils occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Liassine, 2000).

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections communautaires et infections nosocomiales, notamment urinaires et respiratoires. Quant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas sp*, *Acinetobacter ssp...*etc), ils sont à l'origine d'infections nosocomiales diverses, surtout chez les immunodéprimés (VIH, leucémiques, cancéreux,...).

L'importance de ces bacilles à Gram négatif est liée à leur multi-résistance aux antibiotiques disponibles actuellement, ce qui a suscité de nombreuses études ces dernières décennies (Gueye, 2007).

#### 1.1. Entérobactéries

##### 1.1.1. Taxonomie et habitat

Les entérobactéries appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae et renferment les genres *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*. En 1937, Rahn rassembla ces genres bactériens dans le genre unique *Enterobacter*.

La subdivision des genres et espèces est basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques des bactéries (Joly et Reynaud, 2002).

La plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux. Ils peuvent persister en dehors d'organismes vivants, on les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (Fauchère et Avril, 2002).

### 1.1.2. Définition et caractéristiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif. Certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment le genre *Proteus*. Elles sont non sporulées, le plus souvent mobiles, mais immobiles dans le cas des bactéries des genres *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia*, elles sont aérobies-anaérobies facultatives, fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*). Elles n'ont pas d'oxydase et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1). Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif pouvant être cultivés sur des milieux ordinaires. Après culture des entérobactéries, les colonies lisses brillantes et sous les formes S « smooth » sont formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C. Après plusieurs repiquages d'une souche, les colonies deviennent rugueuses et ayant des formes R « rough ». (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).

Les colonies des bactéries produisant une capsule, notamment de *Klebsiella pneumoniae*, sont muqueuses et plus grandes que les colonies habituelles. Dans le cas des espèces *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* qui sont particulièrement mobiles, il se produit fréquemment un envahissement de la surface des milieux solides, gagnant en 24 heures la totalité de la surface.

Il existe cependant des entérobactéries ayant une croissance faible dont les colonies sont naines, c'est le cas de certaines espèces des genres *Shigella* et *Yersinia*. Pour ces dernières par exemple une incubation d'au moins 48 heures à 37°C est nécessaire (Joly et Reynaud, 2002 ; Bidet et Bingen, 2007).

Les entérobactéries sont des chimio-organotrophes, beaucoup sont prototrophes : à partir d'une source unique de carbone (sucre, ...) et d'énergie (électrons), elles sont capables de synthétiser tous les éléments nécessaires à leur survie et à leur croissance (Avril et al., 2000).

### 1.1.3. Identification du genre et espèce

L'identification des différents genres et espèces repose sur plusieurs caractères biochimiques (Joly et Reynaud, 2002):

- Étude des voies métaboliques de la fermentation des sucres et des polyalcools ;
- Production d'un métabolite terminal et recherche d'enzymes ;
- Culture en utilisant une source de carbone définie.

#### 1.1.4. Caractères antigéniques

L'étude des différents caractères antigéniques permet de classer en sérotypes les souches appartenant à une même espèce ou au même genre. La détermination des sérotypes à un grand intérêt épidémiologique pour certaines entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella* et *E. coli* (Avril et al., 2000).

Il existe plusieurs types d'antigènes :

- Antigène commun : appelé « antigène de Kunin » ou (ECA), est présent chez toutes les entérobactéries sauf certaines *Erwinia*.
- Antigène O ou somatique : localisé au niveau de la paroi bactérienne, de nature lipopolysaccharidique.
- Antigène H ou flagellaire : n'existant que chez les bactéries mobiles, de nature protéique.
- Antigène K ou capsulaire : constitué d'une couche externe polysaccharidique ou protéique.

#### 1.1.5. Pouvoir pathogène

Outre son action en agriculture et chez les animaux, le pouvoir pathogène des entérobactéries chez l'homme est considérable. Dans la majorité des cas, l'origine de l'infection est soit endogène à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur.

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections qui sont non spécifiques:

- Les infections communautaires : des infections urinaires provoquées par *E. coli*, des intoxications alimentaires provoquées par les Salmonelles, des infections pulmonaires provoquées par *Klebsiella pneumoniae*.
- Les infections nosocomiales : des infections urinaires, des plaies opératoires, des infections pulmonaires, des septicémies.

En plus des bactéries déjà citées dans les infections communautaires avec un profil de multi résistance on cite: *Enterobacter sp*, *Serratia sp* (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).

### 1.2. Le genre *Pseudomonas*

#### 1.2.1. Taxonomie et habitat

La simplification de cette classification a été réalisée par Stanier qui a étudié principalement l'assimilation des substances carbonées, et par Palleroni qui a classé les espèces de *Pseudomonas* en 5 groupes génomiques; les *Pseudomonas* vrais appartiennent au groupe I. Le genre *Pseudomonas* a été restreint à une cinquantaine d'espèces après l'apport des travaux génétiques. Il est classé dans la famille des *Pseudomonadaceae* ( Martin, 2007).

Ces bactéries se retrouvent plus particulièrement dans les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer et les eaux thermales. Elles se retrouvent en plus petite quantité dans les eaux stagnantes riches en matières organiques. Elles sont considérées comme une flore commensale chez l'homme ou l'animal (Avril et *al.*, 2000).

### 1.2.2. Caractères bactériologiques

**a) Caractères morphologiques et culturaux :** Bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnets, mobiles, non sporulés.

La culture est facile sur milieu complexe avec une source simple de carbone, la température de croissance variée de 4 à 45°C selon les espèces. mais pas à 4°C.

Les colonies de *P. aeruginosa* sont polymorphes, muqueuses, bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes comme pour *Klebsiella* (Avril et *al.*, 2000).

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces fluorescentes produisant des pigments spécifiques ( la pyocyanine et la pyoverdine).

**b) Caractères biochimiques :** Le genre *Pseudomonas* est chimio- organotrophe avec un métabolisme strictement respiratoire, est oxydase positive, certaines espèces réduisent le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate-réductase, utilisent comme source de carbone et d'énergie une diversité de substrats hydrocarbonés (avril et *al.*, 2000). *Pseudomonas aeruginosa* dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa

### 1.2.3 Pouvoir pathogène virulence

Les *Pseudomonas* sont peu virulents pour l'individu normal, par contre ils sont considérés comme des agents infectieux redoutables lorsque les défenses immunitaires du sujet sont altérées. *P. aeruginosa* est l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste. Chez les brûlés, cette infection est l'une des causes majeures de mortalité (Avril et *al.*, 2000).

Les toxines élaborées et les composés de la paroi des espèces du genre *Pseudomonas* sont des facteurs essentiels de la virulence. On distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipases) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine) (Garrity et *al.*, 2010).

## 1.3. Le genre *Acinetobacter ssp*

### 1.3.1. Taxonomie et habitat

Dans la "Approved List of Bacterial Names" deux espèces différentes, *A. calcoaceticus* et *A. lwoffii*, ont été répertoriées, en se basant sur le fait que certains *Acinetobacter* peuvent acidifier le glucose tandis que d'autres non (Peleg et *al.*, 2008).

Longtemps considéré comme un représentant de la famille des *Neisseriaceae*, le genre *Acinetobacter* comprend actuellement 32 espèces.

C'est un germe ubiquitaire retrouvée dans les sols, l'eau potable, les eaux de surface ainsi que dans diverses denrées alimentaires.

Des souches d'*Acinetobacter ssp* sont fréquemment isolées des eaux usées et des boues activées des stations d'épuration. Elles sont capables de stocker les phosphates sous forme de polyphosphates (Lambert, 2007). En revanche, selon une étude récente, *A. baumannii* a été isolé dans plusieurs sources, comme la nourriture (Giamarellou et al., 2008). Chez l'homme et les animaux, les *Acinetobacter ssp* font partie de la flore cutanée normale. D'une manière globale, l'espèce pathogène ou saprophyte la plus fréquemment isolée est *Acinetobacter baumannii* (Euzéby, 2010).

### 1.3.2. Caractères bactériologiques

**a) Caractères morphologiques et cultureux :** Ce sont des coccobacilles à Gram négatif, non sporulées, parfois capsulés, immobiles (Peleg et al., 2008).

L'isolement des souches en milieu solide peut être obtenu après incubation à température comprise entre 30 et 37°C (entre 15°C et 44°C pour *Acinetobacter baumannii*) sur des milieux conventionnels comme la gélose au sang et sur les milieux dédiés aux bacilles à Gram négatif comme la gélose Mac Conkey. Les colonies apparaissent en générale lactose négatif sur les milieux lactosés.

En pratique, l'identification des diverses espèces repose sur la capacité de développement à 37-41 et 44°C pendant 48 heures, l'hydrolyse de la gélatine et les galeries d'identification (Lambert, 2007).

**b) Caractères biochimiques :** Ce sont des aérobies stricts, catalase (+), oxydase (-), prototrophes, (Avril et al., 2000). Ils ne réduisent généralement pas les nitrates en nitrites mais, ils oxydent le glucose et d'autres sucres en acide gluconique, la production d'hydrogène sulfuré, indole, bêta-galactosidase et DNase. Quelques souches produisent une uréase ou une phénylalanine désaminase d'activité faible (Gillespie et Hawkey, 2006).

### 1.3.3. Pouvoir pathogène et virulence

L'incidence des infections à *A. baumannii* a considérablement augmentée durant les 20 dernières années, en particulier dans les unités de soins intensifs et de chirurgie (Giamarellou et al., 2008). *Acinetobacter ssp* est responsable d'infections urinaires chez les malades sondés et peut être isolé aussi chez des malades âgés, fragilisés par une intervention chirurgicale majeure (Avril et al., 2000).

Parmi les facteurs de virulence, on reconnaît un lipopolysaccharide (LPS) impliqué dans le choc septique endotoxinique, des protéines de membrane externe à l'origine de réponse inflammatoire (Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006).

## **2. Les *Staphylocoques***

### **2.1. Généralités sur le genre *Staphylococcus***

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. L'homme est le principal réservoir naturel de *Staphylococcus*.

Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques » (Wylie, Deborah, & Nowicki, 2005).

Les SARM sont des staphylocoques dorés qui ont développé des résistances à plusieurs antibiotiques dont la méticilline, ils sont résistants à toutes les  $\beta$ -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones. Ils représentent 5 à 10% des germes isolés dans les infections nosocomiales.

### **2.2. Taxonomie et classification**

Selon Bergey (1994), la classification du genre *Staphylococcus* est :

Famille: *Staphylococcaceae*, Genre: *Staphylococcus* avec 38 espèces et des sous-espèces.

Dix sept de ces espèces sont retrouvées chez l'Homme. D'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (Aouati, 2009). Parmi celles retrouvées chez l'Homme, trois espèces occupent une place privilégiée essentiellement dans la pathologie humaine: *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. Les autres sont rarement impliquées

### **2.3. Caractères phénotypiques et culturels**

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, catalase-positif et oxydase-négatif. La production d'une coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus*. Les autres espèces sont regroupées sous le terme destaphylocoques à coagulase négative (SCN), dont le représentant principal est *S. epidermidis* (Figarella, 2004).

## 2.4. Pathogénicité et virulence

Les infections par les staphylocoques sont caractérisées d'une part par les caractères destructif, profond et suppuré de la porte d'entrée ou des foyers métastatiques, la rapide dissémination des métastases septiques et l'existence de signes généraux marqués, et d'autre part, la possibilité d'une persistance prolongée plusieurs dizaines d'années (Chaala, 2013).

Les SARM se trouvent sur la peau ou dans les narines des patients. Ils peuvent provoquer des infections de la peau en cas de plaie, des infections sur site opératoire, des pneumonies, des infections urinaires ou des infections du sang.

## 3. Les Entérocoques

L'Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV)

**3.1. Caractéristiques :** Forme ronde avec un petit flagelle, famille : *Enterococaceae*, règne : Bactéria, dimension : 0.6 à 2 micromètre

### 3.2. Habitat

Les Entérocoques constituent une flore autochtone de l'appareil digestif, des conduits urogénitaux et de la cavité orale de l'homme. Plusieurs espèces cohabitent au sein d'une même niche écologique mais une spécificité existe : *Et. faecalis* et *Et. faecium* sont les espèces les plus fréquemment rencontrées chez l'homme. Les entérocoques sont à l'origine de nombreuses pathologies; en effet, ils sont une des premières causes des infections nosocomiales. *Et. faecalis* est responsable à lui seul de 80 à 90% des contaminations et *Et. faecium* est impliqué dans la majorité des cas restants. Ces germes sont responsables, chez l'adulte, d'endocardites, de méningites, de pneumonies (Mundy *et al.*, 2000; Kayser, 2003).

Les souches d'entérocoques sont intrinsèquement résistantes à plusieurs agents antimicrobiens et elles peuvent facilement acquérir des résistances aux antibiotiques, elles sont résistantes par exemple aux glycopeptides (vancomycine, triméthoprim), sulfaméthoxazole, ciprofloxacine, bacitracine, rifampicine, érythromycine, céfotaxime, quinolones et autres antibiotiques (Mathur *et al.*, 2005 ; Klein *et al.*, 1998). Mais elles sont très susceptibles aux framycétines, streptomycines, et aminoglycosides (Pantip *et al.*, 2007).

### 3.3. Résistance des entérocoques

-résistance intrinsèque : naturelle .C'est celle des ERV.

-résistance acquise : mutation de l'ADN ou acquisition de gène de résistance.

### 3.4. Pouvoir pathogène

Le fait que les entérocoques sont considérés comme des souches multirésistantes (Franz *et al.*, 1999;. Kayser *et al.*, 2003) explique qu'elles peuvent servir de réservoirs de gènes de résistance aux antibiotiques transmissibles aux bactéries pathogènes. Par exemple, le gène *tetM* d'*Et. faecalis* est fréquemment rencontrés chez les bactéries pathogènes à Gram positif ou à Gram négatif (*Neisseria meningitidis*, *Listeria innocua*) (Roberts, 1996; Chopra & Robert, 2001).

Au sein des hôpitaux, on réalise des tests de dépistage pour détecter l'ERV, et ce, par crainte qu'il transmette sa résistance aux antibiotiques à d'autres bactéries beaucoup plus dangereuses.



# **PARTIE II**

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

**MATERIELS**

**ET**

**METHODES**

## I-Présentation de la zone d'étude : STEP-ville de Bouira

### 1- Description

La station d'épuration de la ville de Bouira est implantée en amont du barrage Tilesdit sur la rive d'oued Hous et située à 1 km à la sortie-Est du chef-lieu de la ville de Bouira. D'une capacité nominale de 129200 équivalent habitant et étalée sur une superficie de 10 hectare dont 06 hectare couvert, elle recueille les eaux usées urbaines et pluviales de la ville de Bouira. Elle a été réalisée dans le but de protéger le barrage Tilesdit qui est la source principale d'irrigation et d'alimentation en eau potable de certaines villes et villages de Bouira.

La mise en exploitation de la station est intervenue le 01 juin 2013 et est placée sous la tutelle de l'Office National de l'Assainissement « ONA ».

### 2. Objectifs de traitement et caractéristiques de conception

Les objectifs de traitement exprimés par les seuils fixés dans le manuel d'exploitation de la station et les caractéristiques de conception pour les eaux entrant dans la station d'épuration sont ceux donnés, respectivement, dans les tableaux I et II.

**Tableau I** : Objectifs de traitement (ONA-Bouira, 2013)

Paramètres	Seuils
DBO <sub>5</sub>	≤ 20 mg O <sub>2</sub> /l
DCO	≤ 120 mg O <sub>2</sub> /l
MES	≤ 30 mg/l
N-NH <sub>4</sub>	≤ 4 mg/l
N-NO <sub>3</sub>	≤ 8 mg/l
P Total	≤ 2 mg/l
pH	6,5-8,5
Température (C°)	12-20

**Tableau II** : Caractéristiques de conception (ONA-Bouira, 2013)

Paramètres	Unités	Valeurs
Capacité	Equivalent habitant (EqH)	129200
Débit nominal	m <sup>3</sup> /j	25840
Charge massique (Cm)	kg DBO <sub>5</sub> /kg MVS <sub>bassins</sub>	0,12 (faible charge)
MS max dans les bassins biologiques	g/l	4
DBO <sub>5</sub>	mg O <sub>2</sub> /l	302
DCO	mg O <sub>2</sub> /l	703
MES	mg/l	452
N Total	mg/l	51
P Total	mg/l	9

### 3. Description du procès épuratoire

Classiquement, une station d'épuration des eaux usées comprend plusieurs unités de traitement, placées en série et qui assurent consécutivement: un prétraitement mécanique de l'effluent, une décantation primaire, un traitement biologique, une décantation secondaire, une désinfection, et enfin, le traitement des boues récoltées à partir des bassins de décantation (CNFME, 2005).

La figure 1 illustre les principales étapes ci-dessus citées de traitement et d'épuration des eaux usées au niveau de la STEP de la ville de Bouira.

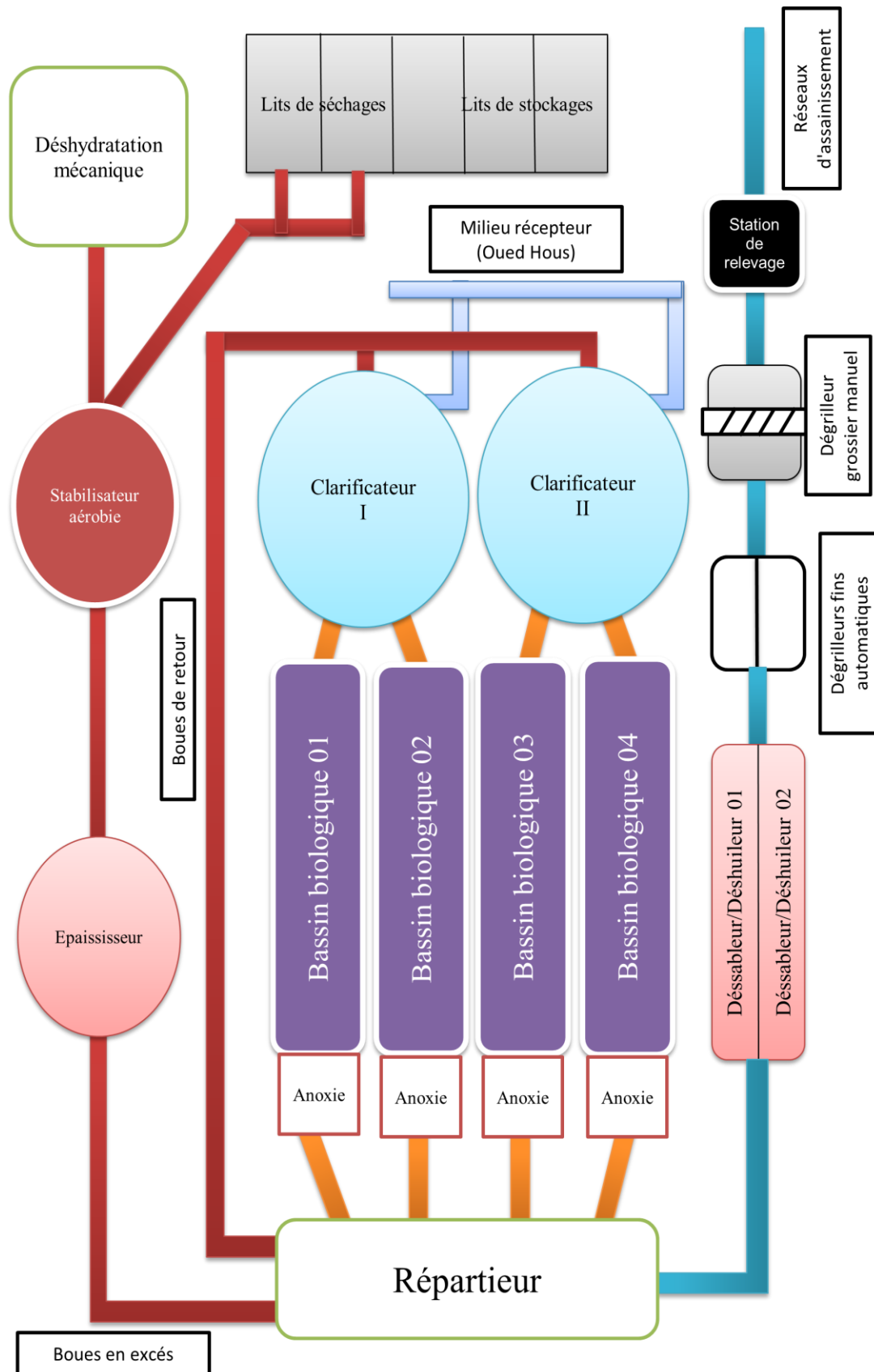
**a) S'agissant du traitement de l'eau** : L'eau usée est collectée et relevée à l'aide d'une station de relevage vers la STEP. Elle passe en premier lieu par un dégrillage grossier à nettoyage manuel qui sert à l'élimination des grosses impuretés ( $\phi > 50$  mm), puis par un dégrillage fin automatique qui élimine les impuretés moyennes ( $\phi > 08$  mm).

Lorsque l'eau arrive dans les deux lignes de dessablage/déshuilage, l'élimination du sable se fait par simple décantation et les huiles par flottation en injectant de l'air sous-pression par les deux suppresseurs d'air. Par la suite, l'eau passe par le répartiteur pour qu'elle soit mélangée avec la boue de retour (zone de contact) pour former la boue activée et se dirige vers les bassins biologiques.

Chaque bassin comprend une partie anoxie où l'oxygène libre est nul pour favoriser la dénitrification (réduction des nitrates  $\text{NO}_3^-$  en nitrites  $\text{NO}_2^-$ , puis en azote gazeux  $\text{N}_2$ ), et une partie aérobie pour l'oxydation biologique de la pollution carbonée et azotée (nitrification), avec une éventuelle déphosphoration biologique qui est favorisée par le système d'aération syncopée. Ces bassins sont aérés par des aérateurs de surface horizontale (rotor-mammouths) et agités avec des agitateurs submersibles.

Après la dégradation biologique de la pollution carbonée, azotée et phosphorée, l'eau se dirige vers les deux clarificateurs pour une séparation du mélange hétérogène eau épurée/boue par simple décantation de cette dernière. L'eau épurée déverse des lames des clarificateurs vers les chicanes de désinfection, puis vers le milieu récepteur (Oued D'hous, dans le cas présent) (ONA-Bouira, 2013).

**b) S'agissant du traitement des boues :** Une partie des boues soutirées des clarificateurs est recyclée dans les bassins biologiques en se mélangeant avec l'eau brute au niveau du répartiteur (zone de contact), l'autre partie est extraite vers l'épaississeur pour qu'elle soit épaissie, puis orientée vers le stabilisateur aérobie, et enfin, vers la déshydratation mécanique qui consiste à déshydrater mécaniquement la boue à l'aide de deux presses à bande et avec ajout de polymère cationique, comme il est possible, aussi, de sécher la boue naturellement dans les lits de séchage (ONA-Bouira, 2013).



**Figure 1** : Schéma descriptif du processus épuratoire des eaux usées au niveau de la STEP-Ville de Bouira (ONA-Bouira, 2013)

## II-Prélèvement

Les différents prélèvements d'échantillons d'eau usée ont été effectués aseptiquement au cours de plusieurs campagnes de terrain, étalées sur une période de deux mois (du 05 avril 2017 au 29 mai 2017). Ils ont été réalisés au niveau de deux points distincts, à savoir :

- En amont de la station de relevage (à l'arrivée de la STEP) ;
- En aval du bassin de désinfection (à la sortie de la STEP).

Les échantillons sont collectés dans des flacons stériles en verre de 500 ml, puis acheminés directement vers le laboratoire d'analyses microbiologiques et celui d'analyses physico-chimiques (Figure 2).



**Figure 2 :** Station de relevage n° 2-STEP de la ville de Bouira: Prélèvement d'eau usée

## III-Analyse physico-chimique

Elle consiste à analyser les paramètres physico-chimiques des eaux usées prélevées. Il s'agit essentiellement d'estimer les concentrations des matières en suspension (MES), la demande biochimique en oxygène (DBO), la demande chimique en oxygène (DCO), l'azote organique ( $\text{NH}_4$ ), les nitrates ( $\text{NO}_3$ ), les nitrites ( $\text{NO}_2$ ), les phosphates ( $\text{PO}_4$ ), la turbidité, le pH, la température ( $T^\circ$ ) et la conductivité.

## IV-Analyse microbiologique

Elle porte sur la recherche des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, à savoir : les Staphylocoques résistants à la méthicilline, les entérocoques résistants à la vancomycine, et les bacilles à Gram négatif résistants aux antibiotiques, notamment les  $\beta$ -lactamines à spectre étendu (BLSE).

### 1. Mise en culture et enrichissement

Une série de 03 tubes à essai contenant 10 ml de bouillon d'enrichissement est préparée. Les deux premiers tubes contiennent du bouillon nutritif, le 3<sup>ème</sup> tube renferme du bouillon Rothe. A chaque tube est additionnée une concentration précise d'antibiotique donné et 01 ml d'échantillon d'eau usée. Il s'agit, respectivement, de l'Oxacilline (OXA), la Céfotaxime (CAZ) et la Vancomycine (VAN) (Tableau III). L'incubation se fait à 37°C pendant 24heures.

**Tableau III** : Mise en culture et enrichissement

	Milieu d'enrichissement	Antibiotique (en µg)	Germes
<b>Tube 1</b>	Bouillon nutritif	03 µg / Oxacilline	Staphylocoques
<b>Tube 2</b>	Bouillon nutritif	03 µg / Céfotaxime	bacilles à Gram négatif
<b>Tube 3</b>	Bouillon nutritif	04 µg / Vancomycine	Entérocoques

### 2. Isolement et purification

Afin d'isoler les différentes souches bactériennes à partir du milieu d'enrichissement, on procède par des ensemencements dans différentes boites de Petri contenant les milieux de culture sélectifs, comme suit:

- Sur gélose Chapman pour l'isolement des Staphylocoques, puis incubation à 37°C/24heures en aérobiose ;
- Sur gélose Mac Conkey pour l'isolement des bacilles à Gram négatif, puis incubation à 37°C/24heures en aérobiose;
- Sur gélose nutritive ou la gélose au sang pour l'isolement des Streptocoques, puis incubation à 37°C/24heures en anaérobiose.

On réalise par la suite, à partir des cultures positives, une purification des souches, et ce, par le repiquage de 03 à 05 colonies caractéristiques des souches bactériennes respectives sur les mêmes milieux de culture sélectifs.

### 3. Identification des souches bactériennes

L'identification des souches bactériennes est réalisée par des tests de coloration et des tests biochimiques (Le Minor et Richard, 1993) basés sur :



- La dégradation du glucose, du lactose et la production de gaz et de H<sub>2</sub>S sur gélose TSI ;
  - La recherche d'uréase, la production d'indole et d'une TDA sur milieu Urée Indole ;
  - La fermentation du mannitol et la mobilité sur milieu Mannitol-Mobilité ;
  - L'utilisation du citrate sur milieu Citrate de Simmons.
- La composition de ces milieux est donnée en annexe 2.

#### 4. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques

- **Antibiogramme**

Les souches d'entérobactéries purifiées et identifiées ont été testées vis-à-vis d'une série de 12 antibiotiques et 06 antibiotiques pour les *Pseudomonas* (Tableau IV).

**Tableau IV** : Liste des antibiotiques testés

Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Famille	
Ceftazidime	CAZ	30	β-lactamines (C3G)	β-lactamines
Cefotaxime	CTX	30	β-lactamines (C3G)	
Amoxicilline / clavulanate	AMC	20/10	β-lactamines (Aminopénicillines)	
Imipénème	IPM	10	β-lactamines (Carbapénèmes)	
Aztréoname	ATM	30	β-lactamines (Monobactames)	
Gentamicine	GEN	10	Aminosides	
Amikacine	AK	30		
Acide Nalidixique	NA	30	Quinolones	
Ciprofloxacine	CIP	05		
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles	
Tétracycline	TE	30	Tétracyclines	
Rifampicine	RIF	05	Rifamycines	

La sensibilité aux antibiotiques est évaluée par le test de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH), conformément aux recommandations du Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2017).

**a) Milieu :** Mueller Hinton (MH)

**b) Inoculum :** On procède par la préparation d'une suspension, à partir d'une culture de 24 heures sur gélose non sélective ; la gélose nutritive (GN) en dissociant 4 à 5 colonies dans 05 ml d'eau physiologique stérile. L'inoculum est ajusté jusqu'à l'obtention d'environ  $10^8$  bactéries / ml. Après homogénéisation de la suspension, on prépare une dilution  $10^{-1}$  qui est l'équivalent d'environ  $10^7$  bactéries /ml (CA-SFM, 2010).

**c) Ensemencement:** Les boîtes de Petri sont ensemencées avec la suspension diluée  $10^{-1}$ , par écouvillonnage, puis les disques d'antibiotiques à tester sont déposés à l'aide d'une pince stérile. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}/24$ heures.

**d) Lecture et interprétation:** Après avoir mesuré les différents diamètres des zones d'inhibitions obtenues autour des disques d'antibiotiques testés, on interprétera les résultats obtenus en Sensible (S) ou Résistante (R), sur la base des critères définis par le CA-SFM-2017 (annexes 6 et 7).

### **5. Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) par le test de synergie (DD-test)**

Cette recherche concerne les souches bactériennes résistantes aux  $\beta$ -lactamines, précisément les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, à savoir : la céfotaxime (CTX) et la céftazidime (CAZ).

Ce test consiste à placer des disques d'antibiotiques (CAZ, CTX, ATM), d'une concentration de 30  $\mu\text{g}$  pour chaque disque, à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque combiné d'amoxicilline et d'acide clavulanique (AMC) avec, respectivement, des charges de 20  $\mu\text{g}$  et 10  $\mu\text{g}$ .

Les boîtes de Petri sont incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque de AMC et les disques de CAZ, CTX ou ATM signifie la production d'une BLSE ( Jarlier et *al.*, 1988).

## 6. Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) par le test de Hodge

Il repose sur l'utilisation d'un disque de 10  $\mu$ g d'imipénème et l'ensemencement d'une souche de référence par écouvillonnage sur gélose MacConkey à l'aide d'une suspension à  $10^8$  bactéries, diluée au  $1/10^8$  ( $10^7$  bactéries).

Dans notre cas, la souche de *Pseudomonas aeruginosa*, résistante à l'imipénème par imperméabilité membranaire, est utilisée comme témoin négatif.

La souche-test suspectée de produire une carbapénèmase est ensemencée en stries depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'au moins 20 mm. L'incubation se fait à 37°C/24heures.

Le test est interprétable en cas de déformation de la zone d'inhibition de la souche de référence le long de la strie de la souche témoin positif. Si une déformation semblable est observée avec la souche test suspecte, celle-ci peut-être considérée comme productrice d'une carbapénèmase.

**RESULTATS**

**ET**

**DISCUSSION**

## Résultats et discussion

### I. Prélèvements

Tout au long de la période de stage qui s'est étalé du 01 avril au 31 mai 2017, 11 prélèvements d'eaux usées ont été réalisés entièrement (100%) au point « station de relevage », situé en amont de la STEP de Bouira ville.

### II. Analyse physico-chimiques des échantillons

Les résultats d'analyses des paramètres physico-chimiques des échantillons d'eaux usées prélevées sont consignés dans l'annexe 5.

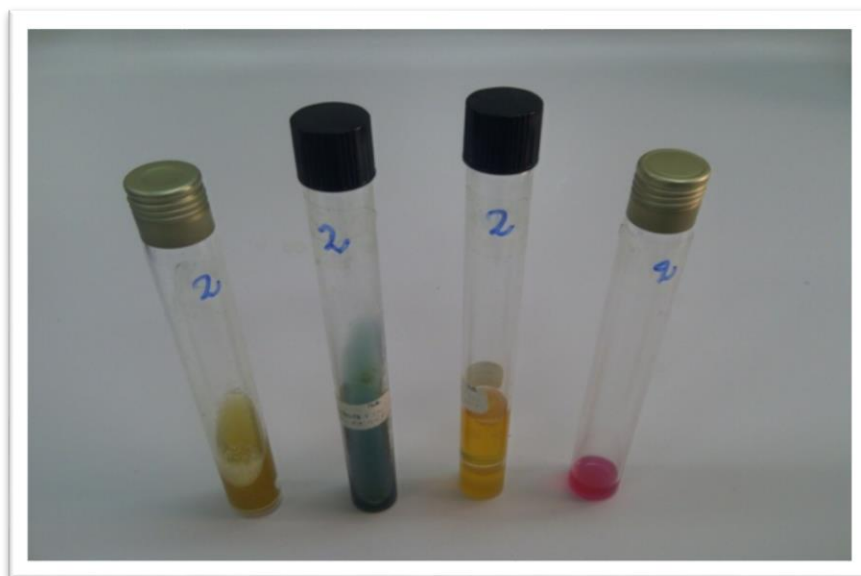
Ces résultats montrent clairement la forte charge microbienne des eaux prélevées en amont de la STEP, puis sa nette diminution après traitement de celle-ci, c'est-à-dire, en aval de la station. Les valeurs des paramètres dosés, notamment la DCO et la DBO viennent appuyer une telle affirmation. Ce qui confirme l'efficacité des traitements, surtout biologiques qu'a eu à subir les eaux usées de la STEP.

### III. Isolement et identification des souches

Les tests d'isolement des souches bactériennes ont révélé l'absence des *Staphylocoques* et des *Entérocoques*. A l'opposé, il ya eu développement des bacilles à Gram négatif, à savoir les *Entérobactéries* et les *Pseudomonas* (figure 3 et 4, annexe 4 et 5).

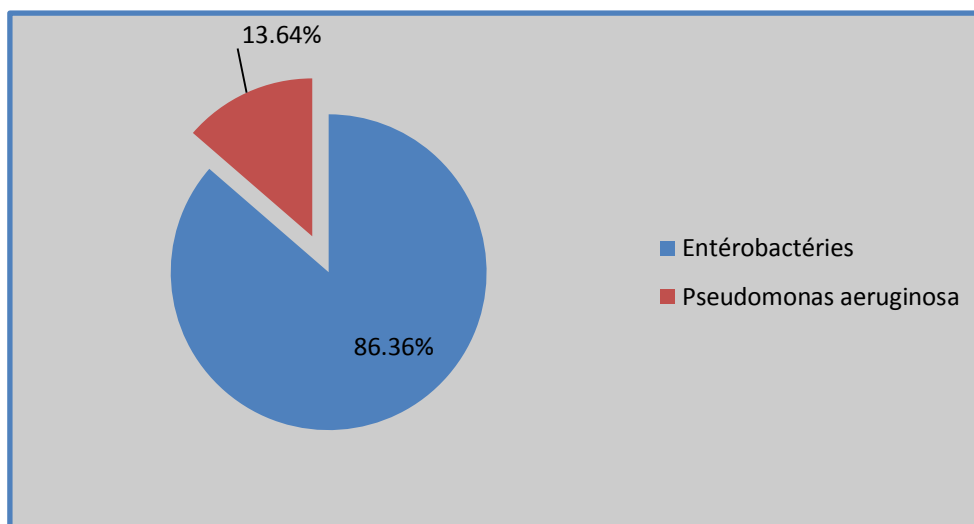


**Figure 3:** Souches de bacilles à Gram négatif isolées sur milieu Mac Conkey



**Figure 4 :** Galerie biochimique du genre *Klebsiella*

Un nombre de 22 souches de bacilles à Gram négatif sont isolées, puis identifiées dont 86,36% appartiennent au groupe des entérobactéries et 13,64 % des *Pseudomonas aeruginosa*. La figure 5 ci-après illustre la répartition des différentes espèces bactériennes.



**Figure 5:** Répartition des souches bactériennes isolées

### Répartition des souches par espèces

Le tableau V ci-dessous montre que 08 espèces bactériennes ont été identifiées. *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 22,72%, suivi équitablement par *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des taux équitables de 13.63% chacune. Les deux espèces restantes, à savoir *Klebsiella oxytoca* et *Providencia sp* ne sont présentes que faiblement avec des taux identiques de l'ordre de 04.54% chacune.

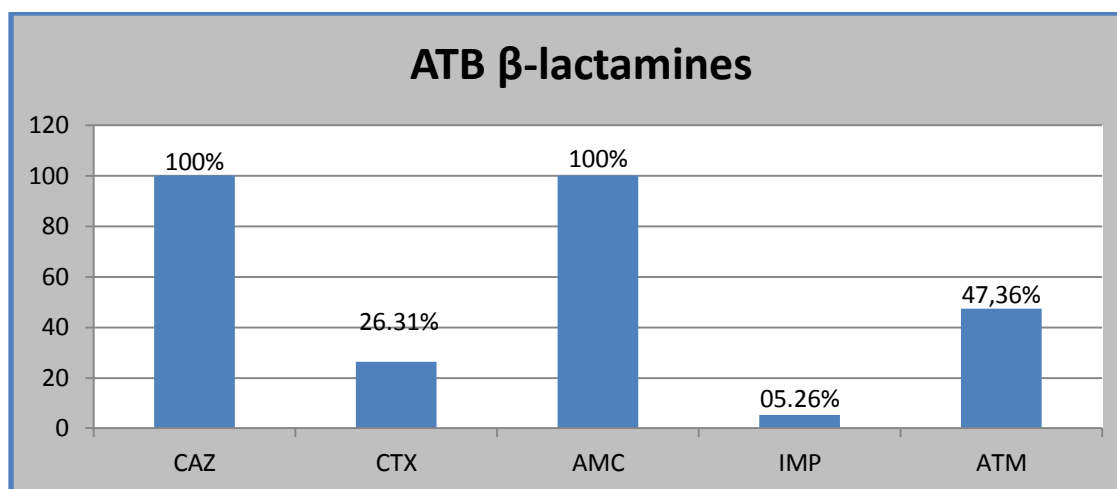
**Tableau V** : Répartition des souches par espèces

Espèce	Nombre d'isolats	Taux
<i>E. coli</i>	05	22.72%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	03	13.63 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	03	13.63 %
<i>Shigella sp</i>	03	13.63 %
<i>Serratia sp</i>	03	13.63 %
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	4.54 %
<i>Providencia sp</i>	01	4.54 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	03	13.63 %

## IV. Résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

### IV.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines

L'analyse des résultats obtenus à partir des antibiogrammes standards réalisés, et sur la base des mesures de diamètres des zones d'inhibition (annexe 6 et 7), révèle la répartition de la résistance des différentes espèces bactériennes identifiées vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines. Les taux de résistance pour cette famille d'antibiotiques sont représentés dans la figure 6.



**Figure 6 :** Taux de résistance vis-à-vis des β-lactamines

On note une résistance parfaite (100%) vis-à-vis de l'AMC (amoxicilline + acide clavulanique). Le même niveau de résistance (100%) est observé vis-à-vis de la ceftazidime.

Quant à l'aztreonam, on enregistre près de la moitié (47.36%) des espèces qui lui sont résistantes. Environ un quart des espèces sont observées résistantes à la cefotaxime. Le taux le plus faible de résistance est remarqué vis-à-vis de l'imipénème (05.26%)

#### IV.2. Résistance aux autres familles d'antibiotiques

La figure 7 donne la résistance des souches d'entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques. On souligne que la majorité des souches (94.73%) sont résistantes à la rifampicine.

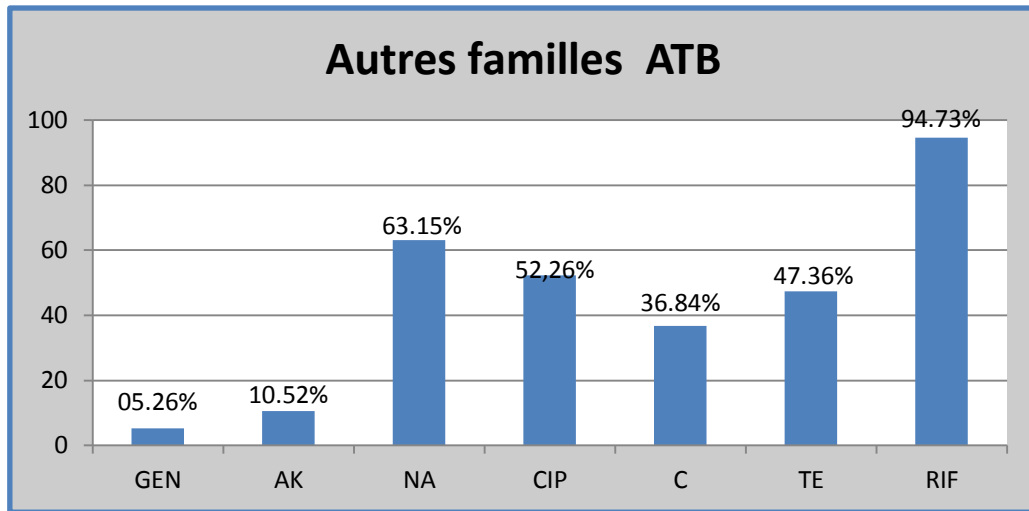
La résistance est exprimée au second plan vis-à-vis des quinolones, notamment l'acide nalidixique auquel près de deux tiers des espèces sont résistantes, suivi par les fluoroquinolones vis-à-vis desquels on constate qu'un un peu plus de la moitié des souches sont résistantes (52.26%).

Un peu moins de la moitié des espèces sont résistantes aux tetracyclines.

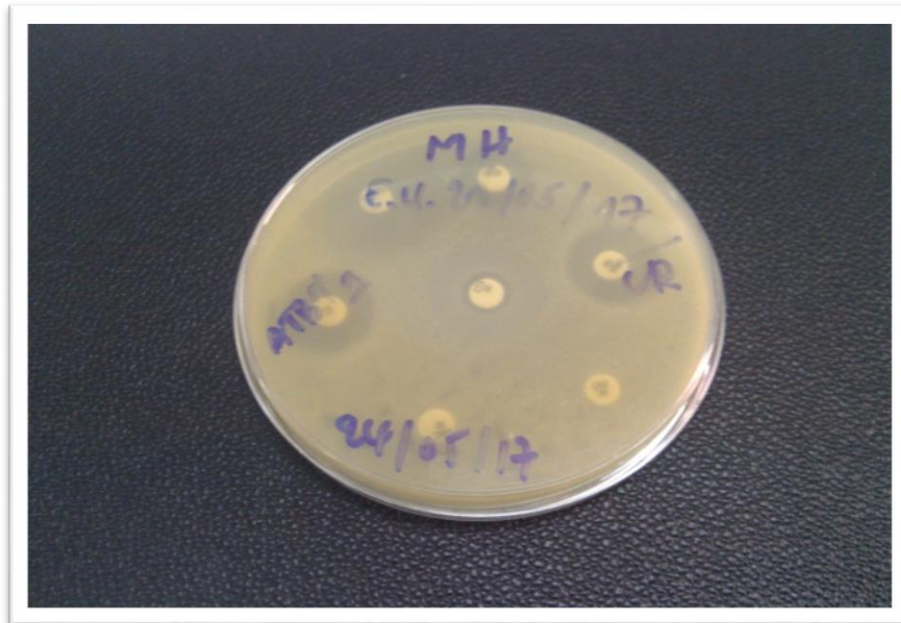
La résistance vis-à-vis des phénicolés ne dépasse que légèrement le un tiers des espèces.

Concernant les aminosides, ces derniers ne sont que faiblement touchés par la résistance des souches isolées. Un dixième sont résistantes à l'amikacine et uniquement 05.26% envers la gentamicine.





**Figure 7 :** Taux de résistance vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques



**Figure 8:** Test de sensibilité aux antibiotiques

## V. Résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

### V.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines

Le tableau VI montre les différents taux de résistance aux  $\beta$ -lactamines. On remarque que toutes les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont résistantes vis-à-vis de seulement un tiers des  $\beta$ -lactamines testés. Il s'agit de la résistance parfaite vis-à-vis de céftazidime.

L'ensemble de ces espèces sont par contre sensibles à l'imipénème et l'aztréonam.

**Tableau VI** : Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines

ATB	CAZ	IMP	ATM
<b>Nombre d'isolats</b>	3/3	0/3	0/3
<b>Taux</b>	100%	0%	0%

## V.2. Résistance aux autres familles d'antibiotiques

On note que l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est résistante à la moitié des antibiotiques testés.

Deux tiers de cette espèce résistent à la tétracycline et un tiers à la ciprofloxacine.

Toutefois, on remarque une totale sensibilité de l'espèce vis-à-vis de la gentamicine et de l'amikacine.

**Tableau VII** : Taux de résistance des souches de *P. aeruginosa* vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques

ATB	GEN	AK	CIP	TE
<b>Nombre d'isolats</b>	0/3	0/3	1/3	2/3
<b>Taux</b>	0%	0%	33.33%	66.66%

## VI. Analyse des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines par le test de synergie (DD-test)

Le DD-test est négatif avec l'ensemble (22) des souches des bacilles à Gram négatif.

Aucune image de synergie n'a été observée.

La figure 9 ci-après montre un exemple de DD-test négatif. Les antibiotiques utilisés sont : céftazidime, céfotaxime, amoxicilline / acide clavulanique et aztreonam.



Figure 9 : Exemple de DD-test négatif

### VII. Recherche de la production des carbapénémases par le test de Hodge

L'image de trèfle est bien visible avec la souche de *Klebsiella pneumoniae-R* testée, ce qui indique qu'il y a eu une production enzymatique, comme illustré sur la figure 10 ci-dessous.

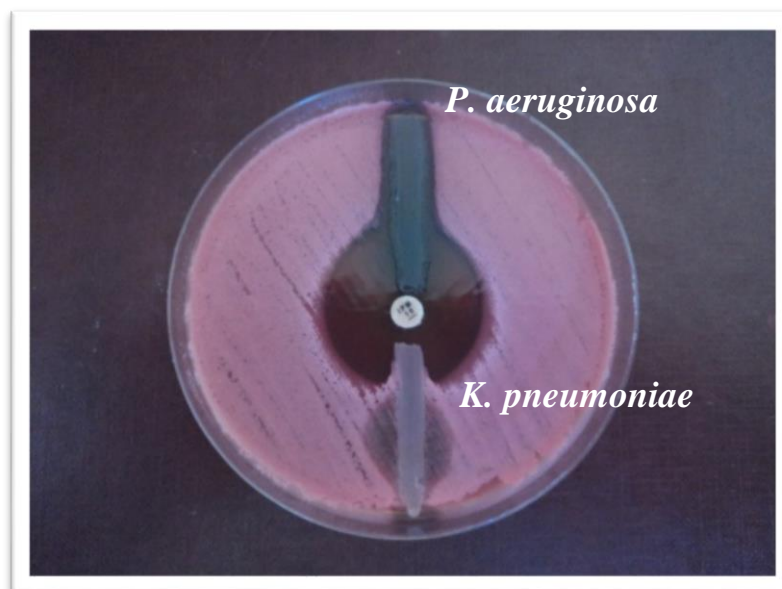


Figure 10 : Exemple de Test de Hodge positif sur milieu Mac Conkey

## VIII. Discussion générale

Durant notre étude, 11 échantillons d'eaux usées ont été prélevés à partir de la station de relevage de la STEP de la ville de Bouira. Au cours des analyses effectuées, tous ces échantillons sont révélés positifs.

Notre recherche a révélé l'absence de *Staphylococcus aureus* résistant à loxacilline et des Entérocoques résistants à la vancomycine.

En parallèle, 22 souches de bacilles à Gram négatif ont pu être isolées.

### a) étude qualitative :

- *Staphylococcus aureus* résistant à l'oxacilline

Les résultats de notre recherche sont aussi négatifs en ce qui concerne cette espèce bactérienne résistante. Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par Parveau (2011). L'auteur affirme qu'au niveau de la STEP de Ginestous aucun SARM n'a été retrouvé lors des différentes campagnes de prélèvement. Pourtant, d'après le même auteur, la littérature montre que la dissémination des *Staphylococcus aureus* résistants est omniprésente et elle va en augmentant. D'ailleurs, cette résistance s'est étendue aux autres pénicillines résistantes aux pénicillinases (oxacilline, dicloxacilline...) et à toutes les autres bêta-lactamines. En France, par exemple, la proportion de SARM atteignait en 1990, 30 à 40%, l'un des taux les plus élevés d'Europe.

L'absence dans notre cas de *Staphylococcus aureus* résistant peut s'expliquer aussi par le fait que l'eau n'étant pas un habitat naturel pour *S. aureus*, il est probable qu'il ne survive pas longtemps dans les eaux usées, excepté fixé dans un biofilm. Toutefois, certains travaux soulignent qu'on a pu mettre en évidence la présence de *S. aureus* résistant, mais uniquement dans les biofilms présents dans le réseau d'évacuation des effluents hospitaliers, et pas dans les eaux usées urbaines. Il serait alors intéressant d'étudier les biofilms présents au niveau de la STEP et d'y rechercher la présence de SARM, afin de confirmer les résultats obtenus (Schwartz *et al.*, 2003).

- Entérocoques résistants à la vancomycine

La recherche des entérocoques s'est révélée négatif sur tous nos échantillons analysés.

Ce résultat est, dans une certaine mesure, conforme à ce qui est déjà constaté en France où la résistance à la vancomycine et à la teicoplanine des entérocoques est rare (moins de 1% des souches) et dont les premiers entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) n'ont été isolés qu'en 1986 (Parveau, 2011).

Actuellement leur isolement est sporadique, mais leur fréquence augmente progressivement, surtout avec la pression de sélection résultant de la prescription des glycopeptides.

Les 22 souches bactériennes isolées, puis identifiées sont scindées en deux groupes, à savoir :

- *Entérobactéries*

Sont les bactéries les plus isolées avec un taux majoritaire de l'ordre de 86,36 % et dont l'espèce *E.coli* est la plus fréquemment isolée (22,72%), suivi par les espèces *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp*, *Klebsiella oxytoca* et *Providencia sp* qui ne sont représentées qu'avec des taux relativement faibles allant de 4.54% à 13.63%. Ceci est confirmé par d'autres travaux. En effet, selon Kümmerer (2009), les bactéries résistantes ou multirésistantes comme *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* sont présentes dans les eaux usées municipales aussi bien que dans les bassins d'aération et dans les processus de digestion anaérobie dans les STEP. On a observé que 32% des coliformes dans les isolats issus des eaux usées à Taïwan étaient multirésistants (résistants à au moins 5 antibiotiques sur 8 testés) et une prévalence de multirésistants pour *E. coli* dans les eaux usées municipales de 34% et effluents des STEP.

- *Pseudomonas aeruginosa*

Le taux de présence est de 13,64 %.

TUMEO *et al.* (2007) ont mis en évidence *P. aeruginosa* multirésistant dans les eaux usées hospitalières et urbaines, mais la fréquence de résistance aux antibiotiques était bien plus élevée dans les eaux usées hospitalières que dans les eaux usées urbaines. Des prélèvements plus nombreux nous auraient peut-être permis de les mettre en évidence au niveau de la STEP. Notons que les *P. aeruginosa* multirésistants isolés sont résistants à 16 des 18 antibiotiques testés.

### **b) sensibilité aux antibiotiques**

L'étude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif isolés aux différentes familles d'antibiotiques testés montre que l'ensemble des souches sont résistantes à au moins un, puis deux antibiotiques, en ce qui concerne, respectivement, les  $\beta$ -lactamines et autres familles d'antibiotiques.

*S'agissant des entérobactéries :*

1) La résistance vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines :

Elle est parfaite pour ce qui est des aminopénicillines et d'une céphalosporine 3G.

On remarque que la résistance vis-à-vis de l'AMC (amoxicilline + acide clavulanique) est totale (100%). L'acide clavulanique a dû restaurer l'activité des  $\beta$ -lactamases avec lesquelles il est combiné chez les souches productrices des  $\beta$ -lactamases, contrairement aux souches productrices uniquement des céphalosporinases (Medboua C., 2010). Le même niveau de résistance (100%) est observé vis-à-vis de la ceftazidime.

La résistance est presque de la moitié envers les monobactames. Une résistance très faible est par contre enregistrée vis-à-vis d'une carbapénème.

Dans notre étude, les taux de résistance des entérobactéries aux C3G observés sont plus élevés par rapport à ceux rapportés dans certains travaux réalisés en Algérie. Ces taux sont de l'ordre de 5,8% (Touati et *al.*, 2006) et de 10,43% (Medboua, 2010).

Egalement, les taux de résistance des souches d'entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines sont élevés à l'exception de l'imipénème qui reste actif sur environ 95% des souches, rendant ainsi ce dernier comme étant la seule  $\beta$ -lactamine active pouvant être utilisée en tant que solution alternative pour les souches résistantes au cefotaxime et ceftazidime. L'imipénème est considéré pour longtemps, selon certaines études, comme un antibiotique de choix, en soulignant son efficacité sur les souches d'entérobactéries productrices de BLSE (Mansour et *al.*, 2008).

Effectivement, la résistance aux  $\beta$ -lactamines repose essentiellement sur la synthèse des  $\beta$ -lactamases plasmidiques, généralement sensibles aux inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (Maurin et *al.*, 1995).

2) La résistance aux autres familles d'antibiotiques :

Elle est fortement exprimée envers des rifamycines (RIF) où 94.73% des souches sont résistantes. Plus de la moitié des souches sont résistantes fluoroquinolones (CIP). Pour les phénicolés et les aminosides, la résistance n'est que faiblement exprimée.

*Cas de E.coli*

La résistance exprimée envers le plus grand nombre d'antibiotiques testés (85.71%) est exprimée par l'espèce *E. coli*, isolée à partir du 11ème et dernier prélèvement. Au sein de cette espèce, seulement 20% sont résistantes à la CTX et 100% le sont pour la CAZ.

Comparativement à l'étude réalisée par Tafoukt en 2010, on constate que si les taux sont proches pour ce qui est de la CAZ, ils ne le sont, cependant, pas pour ceux de CTX.

*Cas de Klebsiella pneumoniae*

La résistance vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines testés est entière (100%) pour l'espèce *Klebsiella pneumoniae*, isolée lors du 10ème prélèvement. Elle est résistante envers 71.14% d'autres familles d'antibiotiques.

Ce taux de résistance est plus élevé comparativement à celui rapporté par Cao et al, qui est de 32% (Cao et al., 2002). Ceci est probablement dû au fait que cette souche est productrice d'enzymes inactivant les C3G telles que les céphalosporinases (Carrër et Nordmann, 2009).

*S'agissant des souches de Pseudomonas aeruginosa :*

1) La résistance envers les  $\beta$ -lactamines : Elle est manifestée vis-à-vis des C3G et à seulement un tiers des autres  $\beta$ -lactamines testés.

Toutes les espèces sont par contre sensibles aux carbapénèmes et aux monobactames.

Nos résultats sont relativement proches, en ce qui concerne IMP et loin pour ce qui est de CAZ, de ceux rapportés en 2009 par le réseau national de la surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques (Benslimani, 2009) et qui sont respectivement de l'ordre de 13,25% et 10,93%.

On note également qu'aucune souche de *P. aeruginosa* isolée ne produit de BLSE. Selon le réseau national de surveillance des bactéries résistantes en Algérie dans son rapport de 2009, la production de BLSE était de 22,02% dans 16 laboratoires et que le nombre de souches de *P. aeruginosa* reste faible (Benslimani, 2009).

2) La résistance aux autres familles d'antibiotiques : L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée résistante à la moitié des antibiotiques testés.

Cependant, une totale sensibilité de l'espèce vis-à-vis des aminosides (GEN et AK) est constatée.

On remarque que nos résultats concernant la résistance relative de nos souches à la ciprofloxacine sont proches de ceux rapportés dans la littérature. En Tunisie, par exemple, Ben Abdallah et *al* 2008 ont rapporté un taux de 21,6% et de 40% en Europe.

Les phénotypes de résistance observés dans notre étude sont variables à savoir l'imperméabilité, l'hyperproduction des céphalosporinases, et enfin, la production des carbapénèmases. Ceci est confirmé par les travaux de Lartigue et *al.* réalisés en 2007 sur l'espèce *E. coli*.

Concernant les phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, notre analyse montre que les tests de synergie sont avérés négatifs avec l'ensemble des souches de bacilles à Gram négatif isolées. Aucune image de synergie n'a été observée. A la différence de ce résultat, certaines études ont montré des tests de synergie positifs à 96.55% des cas effectués sur *E. coli* dans des échantillons environnementaux ( Tafoukt, 2011 ; Reinthaler et *al.*, 2010).

Lors de la recherche de la production des carbapénèmases, on a remarqué une image de très bien visible avec la souche de *Klebsiella pneumoniae-R* testée, ce qui indique que cette dernière a produit une carbapénémase.



# CONCLUSION

Au terme de notre étude qui a porté sur la multirésistance bactérienne aux antibiotiques dans les eaux usées de la ville de Bouira, les résultats obtenus confirment le fait que l'utilisation d'antibiotiques tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire provoque l'émergence puis la dissémination de bactéries antibiorésistantes.

L'ensemble des échantillons analysés au cours de notre étude sont avérés positifs avec un total de 22 souches bactériennes isolées. Les germes incriminés sont des bacilles à Gram négatif représentés par les *Entérobactéries* et les *Pseudomonas* avec des taux respectifs de 86,36 % et 13,63%. Après identification, *E. coli* s'est révélée comme étant l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 22,72%, suivi équitablement par *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp* avec des taux équitables de 13.63% chacune. Les deux espèces restantes, à savoir *Klebsiella oxytoca* et *Providencia sp* ne sont présentes que faiblement avec des taux identiques de l'ordre de 04.54% chacune. Quant à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*, elle occupe un taux de 13.63%.

L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques montre que ces dernières sont résistantes à la majorité des antibiotiques testés, 12 antibiotiques au total.

A des taux proportionnels, les souches d'entérobactéries isolées sont résistantes à tous les antibiotiques testés. L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est résistante à son tour à près de 33% des  $\beta$ -lactamines et à 50% des autres familles d'antibiotiques testés.

Un tel constat est inquiétant dans la mesure où les eaux usées sont rejetées, après traitement au niveau de la STEP, dans le milieu naturel, avec tout ce que suppose une telle situation comme risques potentiels de contamination des sites récepteurs. Il s'agit dans notre cas d'un sérieux danger qui pèse sur les écosystèmes (faune et flore), et notamment sur les périmètres agricoles irrigués à partir de ces eaux mais surtout, sur le barrage de Tilesdit qui se trouve en aval de la STEP de la ville de Bouira qui lui sert à son tour de digue.

Cette étude préliminaire a mis en évidence la présence dans les eaux usées de la ville de Bouira de bactéries multirésistantes aux antibiotiques, ce qui peut poser un problème sanitaire sérieux quand il s'agit de bactéries pathogènes, étant donné que les possibilités de traitement des infections causées par ces microorganismes s'en trouvent amoindries.

Il s'agit donc clairement d'une problématique émergente à prendre en compte sérieusement dans l'avenir dans les travaux de recherche scientifique et médicale.

A fin de tenter de remédier un tant soit peu à ce qui précède et en guise de suggestions, nous considérons profondément que certaines mesures sont à entreprendre, à savoir :

- ✓ Le développement, voire l'enrichissement de la présente étude par des travaux sur le dosage des résidus d'antibiotiques et ceux des métaux lourds au sein de la STEP et d'en établir les relations éventuelles, l'élargissement de la taille de l'échantillon, ainsi que la diversification des points de prélèvement et la périodicité ;
- ✓ Approfondir la connaissance des mécanismes de résistance des BMR mises en évidence ;
- ✓ Engager des enquêtes épidémiologiques afin de limiter la dissémination des souches résistantes et de situer le niveau d'alerte ;
- ✓ Etablir une banque de données sur tout ce qui trait à la résistance bactérienne aux antibiotiques, accompagnée par la synchronisation et le partage de l'information actualisée en permanence ;
- ✓ Enfin, la sensibilisation des citoyens en général, et en particulier les professionnels concernés, sur la problématique de la résistance bactérienne aux antibiotiques et ses dangers.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## A

**ALLEN H.K., DONATO J., HANDELSMAN J. et al.** Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*. 2010, vol 8, n°04, PP251-259.

**AMINOV R.I.** The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environnemental Microbiology [en ligne]*. 2009, vol 11, n°12, PP2970-2988.

**AOUATI H.** *Isolement des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méthicillines: étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques.* Thèse de Master. Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Constantine : Université Mentouri, 2009, 94p.

**AVRIL J. M., DABERNAT H. et MONTEIL D. H.** *Bactériologie clinique.* 3ème Ed. Ed Elsevier. Paris, 2000, 602p

## B

**BENABDELLAH H., NOOMEN S., BENELHADJ Khélifa A. et al.** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région de Monastir, Tunisia. *Revue Médecine et maladies infectieuses*. 2008, Vol 38, n° 10, PP554-556.

**BELMONTE O., DROUET D., ALBA J. et al.** Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des beta-lactamases à spectre élargi. *Revue Pathologie Biologie*. 2010, Vol 58, n° 1, PP18-24.

**BEN ROMDHANE F., BOUGHERRA C.H., SAHNOUN O. ET AL.** (2007). Les bactéries multirésistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. *Revue Tunisienne Infectiologie*. 2007, n°04, PP12-15.

**Benslimani A.** (2009). MRSA, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter* spp. et *P. aeruginosa* résistants à l'imipénème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine. *In* : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 11<sup>ème</sup> rapport d'évaluation (Janvier à Décembre 2009). 198P.

**BENSLIMANI A.** Entérobactéries BLSE, Acinetobacter spp. et P. aeruginosa résistants à l'imipénème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine. 2009, MSPRH, Algérie, 11<sup>ème</sup> rapport d'évaluation : *Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques*. 198P.

**BIDET P. et BINGEN E.** Enterobacteriaceae. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. 2007, Paris, Ed Elsevier Masson. PP 295-322.

**BOUKHATEM L.** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. *Thèse de Master*. Microbiologie. Tlemcen : Université AboubekerBelkaid, 2013, 85p.

## C

**CARRER A. et NORDMANN P.** *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. *Revue Pathologie Biologie*. 2011, Volume 59, Issue 6, PP133-135.

**CATTOIR V.** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Revue Pathologie Biologie*. 2004, Vol 52, n° 10 Elsevier SAS, PP607-616.

**CATTOIR V.** Les nouvelles  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). MAPAR. *Revue Pathologie Biologie*. 2008, Vol 56, n° 7-8 Elsevier SAS, PP507-514.

**CHAALA W.** Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés des produits alimentaires. *Thèse de Magister*. Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Oran : Université d'Es-senia Oran, 2013, 94p

**Centre National de Formation aux Métiers de l'Eau (CNFME).** Document interne « *Caractérisation des eaux usées* », 2005, 105p.

**Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CFA-SFM).** Recommandations 2017. *Société Française de Microbiologie*, 2017, 50P

**CUZON G., NAAS T. et NORDMANN P.** KPC carbapénémases: What issue in clinical microbiology. *Revue Pathologie Biologie*. 2010, Volume 58, Issue 1, PP39-45.

## D

**DELCOUR A.H.** Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Revue Biochimica et Biophysica Acta*. 2009, Vol 1794, n°05, PP808-816.

## E

**ESSACK S.Y.** The developpement of  $\beta$ -lactam antibiotic in response to the evolution of  $\beta$ -lactamase. *Revue Pharmaceutical Research*. 2001, Vol 18, n°10, PP1391-1399.

**EUZEBY J.P.** Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 2010, disponible sur: <http://www.bacteriologie.net/generale/resistancenaturelle.html>

## F

**FALAGAS M.E.** Extend-spectrum  $\beta$ -lactamase producing organisms. *Journal of Hospital Infection*. 2009, vol 73, n°04, PP345-54.

**FAUCHERE J. L. et AVRIL J. L.** Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris, 2002, 368p.

**FIGARELLA J. L.** Microbiologie générale et appliquée. *Collection*. Ed.Delagrave, Paris, 2004, 285p.

## G

**GARRITY G. M., BELL J. A. et LILBURN T.** Pseudomonadales. In **BRUNNER D. J., KRIEGN. R. et STALEY T.** *Revue Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2010, vol n°02, .2eme Ed., PP 323-441.

**GIAMARELLOU H., ANTONIADOU A. et KANELLAKOPOULOU K.** *Acinetobacter baumannii* : a universal threat to public health. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008, vol 32, n°02, PP106-119.

**GILLESPIE S. H. et HaAWKEY P.M.** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Edition wiley. 2<sup>eme</sup> Edition. London, 2006, 620p.

**GUEUDET T., RICHTER S., SZULC M. et JEHL F.** Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques: deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. *Revue Médecine et maladies infectieuses*. 2010, n°40, PP177-179.

**GUEYE O.** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. *Thèse de doctorat*. 2007, Université cheikh Anta Diop de Dakar, 120p.

**GUILLEMOT D. et LECLERCQ R.** Impact de l'exposition des populations sur le risque de résistance bactérienne. *Revue Médecine et maladies infectieuses*. 2005, vol 35, n°03, PP212-220.

## H

**JACOBY G. A.**  $\beta$ -lactamase Nomenclature. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy. NCBI-USA*. 2006, vol 50, n°04, PP 1123–1129.

**JACOBY G., and BUSH K.(2007).**  $\beta$ -lactam resistance in the 21<sup>st</sup> centry. *Frontiers in antimicrobial resistance: a tribue to Stuart B. Levy. NCBI-USA*. 2007, vol 20, n°03, PP 440–458.

**JOLY B. et REYNAUD A.** Entérobactéries : *Systématique et méthodes de diagnostic*. 2003, Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris. 356P.

**JOLY-GUILLOU M. L.** *Acinetobacter*. In Courvalin P., Leclercq R. et Bingen E. *Antibiogramme*. Ed ESKA. Paris, 2012, 800p.



## K

**KELLY B.G., VESPERMANN A., BOLTON D.J.** Gene transfert events and their occurrence in selected environments, *Food and Chemical Toxicology*. 2009, n°47, PP978-983.

**KIM S. and AGA D.S.** Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plant. *Journal of Toxicology and Environment. Health*. 2007, n°10, PP559-573.

**KUMMERER K.** Resistance in the environment. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2004, n°54, P311-320.

**LAMBERT T.** *Acinetobacter*. In **DENIS F., PLOY M.C., MARTIN C., et al.** Bactériologie médicale: *Techniques usuelles*. Ed Elsevier Masson . Paris, 2007, n° PP344-346.

## L

**LIASSINE N.** Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr*. 2000, n°130, PP1930-1936.

**LIVERMORE D. M.**  $\beta$ -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 1995, n°08, PP557-84.

## M

**MARTIN C.** Bacilles à Gram négatif non fermentaires. In **DENIS F., PLOY M.C., MARTIN C. et al.** Bactériologie médicale: *Techniques usuelles*. 2007, Ed Elsevier Masson . Paris, n° PP330-343.

**MARTINEZ J.L.** Environnemental pollution by antibiotic resistance determinants. *Environnemental pollution*. 2009, n° 157, PP2893-2902.

**MEDBOUA C.** Caractérisation des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger. *Thèse de Magister*. Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes. 2010, Béjaia: Université Abderrahmane Mira. 88p.

**MINDLEN S.Z., PETROVA M.A. et BASS I.A.** Origin, Evolution and Migration of drug Resistance Genes. *Russian Journal of Genetics*. 2006, n°42, PP1495-1511.

**MKAOUAR D., MAHDJOUBI F., MEZGHANI S. et al.** Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses*. 2008, n°38, PP293-298.

## N

**NISHINO K., NIKAIDO E. et YAMAGUCHI A.** Regulation and physiological function of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Elsevier*. 2009, n°1794, PP834-843.

## O

**OFFICE NATIONAL DE L'ASSAINISSEMENT ONA.** Manuel d'exploitation (*document interne*) de la Station de Traitement et d'Épuration des Eaux Usées de la ville de Bouira. 2010.

**ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE OMS.** Thème de santé. *Résistance aux médicaments*. 2015. Disponible sur : [www.who.int/mediacentre/factsheets/antibioticresistance/fr](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibioticresistance/fr)

## P

**PAGES J.M.** Porine bactérienne de sensibilité aux antibiotiques. *Médecine science*. 2004, n°20, PP346-350

**PELEG A.Y., SEIFERT H. et PATERSON D.L.** *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 2008, vol 21, n°03, PP538-582.

**POURRIAT J.L., MARTIN C.** Principes de réanimation chirurgicale. *Arnette*. 2005, 1430p

## Q

**QUCKIEWICZ A., JANKOWSKI K., FUDALA-KSIA.** Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant. *Water research*. 2010, n°44, PP5089-5097

## R

**RAHUBE T.O. et YOST C.K.** Antibiotic resistance plasmids in wastewater treatment plants and their possible dissemination into the environment. *African Journal of Biotechnology*. 2010, vol 9, n°54, PP9183-9190.

**RAMDANI BOUGUESSA N., SEGHER M., BELOUNI R. et BENSLIMANI A.** Manuel de microbiologie. *Office des Publications Universitaires OPU*. Algérie. 2016, 279P.

**RESEAU ALGERIEN DE SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES AARN.** 16<sup>ème</sup> rapport d'évaluation, 2017.

**ROY D.** Identification et caractérisation de la région variable des intégrons de classe 1 identifiés chez les différents isolats cliniques à Gram négatif et caractérisation du mécanisme résistance aux  $\beta$ -lactamines chez un isolat de *Salmonella spp* isolé au Québec. *Mémoire de Maître es science*. Université Laval. 2000, 197P.

## S

**SCHLUTER A., SZCZEPANOWSKI R., PUHLER A. et TOP E.M.(2007).** Genomics of IncP1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool. *FEMS Microbiol Rev*. 2007, n°31, PP449-477

**SCHWARTZ T., KOHNEN T., JANSEN B.** Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance gene in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*. 2003, n°43, PP325-335.

**SOTA M., TOP EM.** Horizontal gene transfer mediated by plasmids. In: Plasmids: Current Research and Future Trends, Lipps G.(ed) . *Caister Academic Press*, Norfolk, UK. 2008, n° PP111-181.

**STANDARDISATION DE L'ANTIBIOGRAMME EN MEDECINE HUMAINE A L'ECHELLE NATIONALE.** *Recommandations de l'OMS*. 2008, 5<sup>eme</sup> Ed., 109 P.

**SYLVIE-CARLE.** (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*. 2009, n°42, PP6-21.

## T

**TAFUKT R.** Caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux antibiotiques des souches d'E.coli isolées de la station d'épuration d'Aokas-Béjaia. *Thèse de Magister*. Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes. 2011, Béjaia: Université Abderrahmane Mira. 69p.

**TENNESTEDT T., SZCZEPANOWSKI R. et SCHLUTER A.** Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant. *FEMS Microbiology Ecology*. 2003, n°45, PP239-252.

**TOUATI A.** Caractérisation des phénotypes de résistances des entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines isolées en milieu hospitalier : cas de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia. *Thèse de doctorat*. Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes.2006, Béjaia: Université Abderrahmane Mira. 91p.

## V

**VANNESTE J.L. et CORNISH D.A.** Isolation of copper and streptomycin resistant phytopathogenic *Pseudomonas Syringae* from lakes and rivers in the central north island of New Zealand. *NZ Plant Prot*. 2008, n°61, PP80-85.

# ANNEXES

## Annexe 1

Concentration des antibiotiques dans les eaux usées (Kim et al., 2007)

Antibiotiques	Concentrations maximales ( $\mu\text{g/l}$ )	Pays
Amoxicilline	150	USA
Chlortetracycline	1.2	USA
	2.8a*	USA
Ciprofloxacine	0.6	Suisse
	1.4, 0.5a	USA
Clarithromycine	0.3	Suisse
Erythromycine – H <sub>2</sub> O	6.0a	Allemagne
	0.6a	USA
Gentamicine	7.6	Allemagne
Norfloxacine	0.5	Suisse
Sulfaméthoxazole	2.8, 0.7a	USA
	0.8a	USA
Tetracycline	4	USA
	1.1, 0.3a	USA
Triméthoprim	0.4a	USA
	7.9, 2.4a	USA

\*a : concentration d'antibiotiques dans les eaux usées traitées.

**Annexe 2**

Composition des réactifs et des milieux de culture (Le Minor et Richard, 1993)

**Réactifs**

<b>Réactif de Kovacs</b>	
Alcool amylique	5 g
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	75 ml
HCl pur	25

**Milieux d'isolement**

<b>Gélose nutritive</b>	
Extrait de viande	01 g
Extrait de levure	02
Peptone	05
Chlorure de sodium	05
Agar	15
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4

<b>Gélose Chapman</b>	
Peptones	11 g
Extrait de viande	01
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Rouge de phénol	0.025
Agar	15
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4

<b>Gélose Mac Conkey</b>	
Peptone de caséine	17 g
Crisal violet	0.001
Crisal violet	0.001
Rouge neutre	0.03
Chlorure de sodium	5
Mélange de sels biliaires	1.5
Lactose	10
Peptone de viande	3
pH	7.4

<b>Gélose au Sang – 5% mouton</b>	
Extrait de tissu cardiaque	10 g
Extrait de boeuf	08.5
NaCl	05
Agar	15
Sang de mouton défibrinisé	50 ml
Eau distillée	1000
pH	6,8 ± 0,2

### Milieu utilisé pour l'antibiogramme

<b>Gélose Mueller Hinton</b>	
Infusion de viande de bœuf	300 g
Hydrolysate de caséine	17,5
Amidon	01,5
Agar	17
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4



### Milieux utilisés pour l'identification biochimique

<b>Gélose TSI</b>	
Extrait de viande de bœuf	03 g
Extrait de levure	03
Peptone tryptique	20
Chlorure de sodium	05
Citrate ferrique	0.3
Thiosulfate de sodium	0.3
Lactose	10
Glucose	01
Saccharose	10
Rouge de phénol	0.05
Agar	12
Eau distillée	1000 ml
pH	7,4

<b>Milieu Urée-Indole</b>	
L-tryptophane	03 g
Phosphate monopotassique	01
Phosphate bipotassique	01
Chlorure de sodium	05
Urée	20
Alcool à 90°	10 ml
Rouge de phénol	0.025 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7

<b>Milieu Citrate de Simmons</b>	
Citrate de sodium	02 g
Chlorure de sodium	05
Sulfate de magnésium	0.2
Phosphate monoammoniaque	01
Phosphate bipotassique	01
Bleu de bromothymol	0.08
Agar	15
Eau distillée	1000 ml
pH	7.0-7.2

<b>Milieu Mannitol-Mobilité</b>	
Hydrolysate tryptique de caséine	10 g
Mannitol	07
Rouge de phénol	0.04
Nitrate de potassium	01
Agar	03.5
Eau distillée	1000 ml
pH	7.6

**Annexe 6**

Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour les entérobactéries (CA-SFM, 2017)

Antibiotique	Diamètres critiques (mm)	
	S ≥	R <
Ceftazidime	22	19
Cefotaxime	20	17
Amoxicilline / clavulanate	19	19
Imipénème	22	16
Aztréoname	26	21
Gentamicine	17	14
Amikacine	16	13
Acide Nalidixique	19	14
Ciprofloxacine	26	24
Chloramphénicol	17	17
Tétracycline	15	12
Rifampicine	19	14

**Annexe 7**

Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour les Pseudomonas (CA-SFM, 2017)

Antibiotique	Diamètres critiques (mm)	
	S ≥	R <
Ticarcilline	18	18
Ticarcilline + ac.clavulanique	18	18
Pipéracilline	18	18
Ceftazidime	16	16
Aztréonam	25	22
Imipénème	20	17
Gentamicine	15	15
Amikacine	18	15
Nétilmicine	12	12
Tobramycine	16	16
Ciprofloxacine	26	26
Lévofloxacine	22	22

**Annexe 3**  
**Analyse des paramètres physicochimiques des eaux usées -Avril et mai 2017**  
**(ONA-Bouira, 2017)**

Date	Eau brute											Eau épurée										
	MES	DBO	DCO	NH4	NO3	NO2	PO4	turbidité	pH	T°	Conductivité	MES	DBO	DCO	NH4	NO3	NO2	PO4	turbidité	pH	T°	Conductivité
16/04/2017	54								8,02	17,4	1005	5								7,94	17,9	1009
19/04/2017	212	280	362,23						7,94	18	1093	1	5	29,01						7,49	18,2	988
20/04/2017	146	170	358	40,2	43,6	39	2,28	135	7,96	17,9	1073	1	13	30	0,66	2,4	2	7,23	4	7,54	18,1	983
25/04/2017	221	270	388	33,6	32,2	17	4,78	180	7,97	17,9	1084	5	9	11	0,16	8,2	2	5,06	3	7,58	18	976
02/05/2017	133	80	195	9,8	6,7	6	7,32	120	7,49	18	1014	3	9	41	0,14	5,6	4	6,39	5	7,02	18,2	922
09/05/2017	39	170	234	33,6	49,2	14	2,63	84	7,98	17,6	1081	2	6	37	0,78	0,9	1	1	3	7,95	19,6	968
16/05/2017	142	190	266	9,4	55,8	18	5,68	134	7,91	20,2	1045	8	5	14	0,08	23,3	1	8,64	12			
23/05/2017	162	320	410	4	47,5	20	12	156	7,95	20,4	1072	2	6	18	0,86	35,4	3	2,1	9	7,59	21,4	951
30/05/2017	144		392	26,8	50,3	19	7,44	123	8,12	20,8	1076	7		38	3	13,3	15	7,77	15	7,62	21,3	1011

**Annexe 4****Résultats des Tests d'isolement des souches bactériennes**

Echantillon n°	Date	Souches bactériennes		
		Staphylocoques	Entérocoques	Entérobactéries
E.U.1	05/04/2017	-	-	+
E.U.2	09/04/2017	-	-	+
E.U.3	16/04/2017	-	-	+
E.U.4	19/04/2017	-	-	+
E.U.5	24/04/2017	-	-	+
E.U.6	30/04/2017	-	-	+
E.U.7	09/05/2017	-	-	+
E.U.8	14/05/2017	-	-	+
E.U.9	16/05/2017	-	-	+
E.U.10	21/05/2017	-	-	+
E.U.11	29/05/2017	-	-	+

## Annexe 5

## Résultats des tests biochimiques des souches de bacilles à Gram négatif isolées

ECHANTILLON N°	DATE	SOUCHES ISOLEES	CARACTERES BIOCHIMIQUES								
			Glu.	Lac.	Gaz	Indole	Citr.	Mob.	Manitol	Urée	H2S
E.U.1	05/04/2017	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-
E.U.2	09/04/2017	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
E.U.3	16/04/2017	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-
		<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-
E.U.4	19/04/2017	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-
		<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-
		<i>Providencia sp</i>	+	-	-	+	+	+	+	-	-
E.U.5	24/04/2017	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		<i>Shigella sp</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
E.U.6	30/04/2017	<i>Serratia sp</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
E.U.7	09/05/2017	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-
		<i>Serratia sp</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
		<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-
E.U.8	14/05/2017	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-
		<i>Serratia sp</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
E.U.9	16/05/2017	<i>Shigella sp</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	
E.U.10	21/05/2017	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-
		<i>Shigella sp</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
E.U.11	29/05/2017	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-
		<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	-

## Annexe 8

Résultats des diamètres de résistance des bacilles à Gram négatif aux  $\beta$ -lactamines

Echantillon n°	Date	Souches isolées			Antibiotiques ( $\beta$ -lactamines)										Synergie
		Staphylocoques	Entérocoques	Entérobactéries	CAZ		CTX		AMC		IMP		ATM		
					$\phi$ (mm)	S/R	$\phi$ (mm)	S/R	$\phi$ (mm)	S/R	$\phi$ (mm)	S/R	$\phi$ (mm)	S/R	
E.U.1	05/04/2017	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	R	31	S	0	R	30	S	18	R	-
E.U.2	09/04/2017	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	R	18	R	0	R	32	S	32	S	-
E.U.3	16/04/2017	-	-	<i>E.coli</i>	0	R	24	S	0	R	32	S	15	R	-
		-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	R	0	R	0	R	32	S	32	S	-
		-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	R	18	R	0	R	32	S	32	S	-
		-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	0	R	32	S	0	R	32	S	32	S	-
E.U.4	19/04/2017	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	14	R	30	S	0	R	28	S	32	S	-
		-	-	<i>E.coli</i>	0	R	20	S	0	R	34	S	28	S	-
		-	-	<i>Providencia sp</i>	16	R	20	S	0	R	34	S	30	S	-
E.U.5	24/04/2017	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	R	0	R	0	R	32	S	28	S	-
		-	-	<i>Shigella sp</i>	0	R	14	R	0	R	38	S	18	R	-
E.U.6	30/04/2017	-	-	<i>Serratia sp</i>	0	R	22	S	0	R	32	S	20	R	-
E.U.7	09/05/2017	-	-	<i>E.coli</i>	8	R	19	R	12	R	30	S	20	R	-
		-	-	<i>Serratia sp</i>	0	R	22	S	0	R	31	S	32	S	-
		-	-	<i>E.coli</i>	0	R	21	S	0	R	32	S	32	S	-
E.U.8	14/05/2017	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	0	R	20	S	0	R	33	S	14	R	-
		-	-	<i>Serratia sp</i>	0	R	28	S	0	R	30	S	32	S	-
E.U.9	16/05/2017	-	-	<i>Shigella sp</i>	0	R	0	R	0	R	30	S	20	R	-
E.U.10	21/05/2017	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	R	12	R	0	R	15	R	12	R	-
		-	-	<i>Shigella sp</i>	0	R	26	S	0	R	28	S	19	R	-
E.U.11	29/05/2017	-	-	<i>E.coli</i>	0	R	28	S	0	R	34	S	32	S	-
		-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	0	R	18	S	0	R	29	S	26	S	-

## Annexe 9

## Résultats des diamètres de résistance des bacilles à Gram négatif aux autres familles d'antibiotiques

Echantillon n°	Date	Souches isolées			Autres familles d'antibiotiques													
		Staphylocoques	Entérocoques	Entérobactéries	GEN		AK		NA		CIP		C		TE		RIF	
					φ (mm)	S/R	φ (mm)	S/R	φ (mm)	S/R	φ (mm)	S/R	φ (mm)	S/R	φ (mm)	S/R	φ (mm)	S/R
E.U.1	05/04/2017	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23	S	26	S	22	S	24	R	25	S	17	S	0	R
E.U.2	09/04/2017	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	S	20	S	0	R	28	S	10	R	0	R	0	R
E.U.3	16/04/2017	-	-	<i>E.coli</i>	25	S	15	R	24	S	26	S	18	S	28	S	20	S
		-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28	S	20	S	14	R	12	R	13	R	15	S	15	R
		-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	S	20	S	28	S	28	S	29	S	26	S	10	R
		-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	18	S	18	S	0	R	15	R	28	S	8	R	12	R
E.U.4	19/04/2017	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	26	S	20	S	23	S	0	R	20	S	18	S	12	R
		-	-	<i>E.coli</i>	20	S	28	S	10	R	32	S	30	S	0	R	0	R
		-	-	<i>Providencia sp</i>	18	S	20	S	36	S	32	S	32	S	26	S	15	R
E.U.5	24/04/2017	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	S	26	S	0	R	28	S	12	R	0	R	8	R
		-	-	<i>Shigella sp</i>	28	S	26	S	20	S	30	S	26	S	24	S	8	R
E.U.6	30/04/2017	-	-	<i>Serratia sp</i>	20	S	28	S	0	R	23	R	19	S	0	R	0	R
E.U.7	09/05/2017	-	-	<i>E.coli</i>	26	S	26	S	24	S	8	R	30	S	26	S	0	R
		-	-	<i>Serratia sp</i>	20	S	28	S	0	R	24	R	12	R	0	R	0	R
		-	-	<i>E.coli</i>	20	S	28	S	0	R	30	S	11	R	0	R	8	R
E.U.8	14/05/2017	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	20	S	28	S	0	R	0	R	14	R	0	R	0	R
		-	-	<i>Serratia sp</i>	26	S	28	S	12	R	26	S	20	S	20	S	0	R
E.U.9	16/05/2017	-	-	<i>Shigella sp</i>	20	S	26	S	14	R	28	S	15	R	16	S	8	R
E.U.10	21/05/2017	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26	S	26	S	18	R	14	R	0	R	0	R	0	R
		-	-	<i>Shigella sp</i>	28	S	0	R	16	R	24	R	18	S	18	S	15	R
E.U.11	29/05/2017	-	-	<i>E.coli</i>	16	R	18	S	11	R	12	R	12	R	10	R	12	R
		-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	20	S	28	S	13	R	26	S	9	R	12	R	8	R





## Résumé

Notre travail porte sur la recherche et l'identification de bactéries multi-résistantes (BMR), isolées à partir des eaux usées de la ville de Bouira, suivies de l'étude de leur résistance aux antibiotiques (ATB).

Cette étude réalisée d'abord au niveau de la station de traitement et d'épuration des eaux usées (STEP) de la ville de Bouira, puis au laboratoire de microbiologie de l'université de la même ville durant une période de 02 mois, allant du 01 avril au 31 mai 2017, nous a permis de collecter 11 échantillons provenant du collecteur principal (station de relevage) des eaux usées de la STEP, tous révélés positifs.

Les souches isolées, puis identifiées sont au nombre de 22 espèces et appartiennent toutes à la famille des *Enterobacteriaceae*. A l'opposé, il ya absence totale de souches appartenant à la famille des *Staphylococcus* et à celle des *Entérocooccus*.

L'espèce *E. coli* se trouve dominante (22.72%), suivie de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp* et *Pseudomonas aeruginosa* (13.63%). *Klebsiella oxytoca* et *Providencia sp* ne sont présentes que faiblement (04.54%), et *Acinetobacter* est complètement absent.

Les tests de sensibilité de ces souches vis-à-vis d'une série de 12 ATB, toutes classes confondues, confirment l'importante ampleur prise par l'apparition des bactéries résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, surtout aux  $\beta$ -lactamines, dans notre zone d'étude.

*Mots-clés : Bactérie, multi-résistance, antibiotique, Eau usées, ATB, BMR, STEP.*

## Abstract

Our work focuses on the search and the identification of multi-drug resistant bacteria, isolated from the wastewater of the city of Bouira, and then on the study of their resistance to antibiotics.

The isolated and identified strains were 22 species, and were confirmed as *Enterobacteriaceae*. At the opposite *Staphylococcus* and *Entérocooccus* were totally absent.

*E.coli* Was the predominant species with 22.72%, it's followed by *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp* and *Pseudomonas aeruginosa* (13.63%).

*Klebsiella oxytoca* and *Providencia sp* are less present's (04.54%), and *Acinetobacter* were totally absent.

The tests on the susceptibility of the trains to the 12 series of antibiotics (all antibiotics classes) confirm the importance that multi-drug resistant bacteria has taken, especially to the  $\beta$ -lactamines, in our study area.

*Keywords: Bacteria, multi-resistance, antibiotics, waste water*

## Résumé

Notre travail porte sur la recherche et l'identification de bactéries multi-résistantes (BMR), isolées à partir des eaux usées de la ville de Bouira, suivies de l'étude de leur résistance aux antibiotiques (ATB).

Cette étude réalisée d'abord au niveau de la station de traitement et d'épuration des eaux usées (STEP) de la ville de Bouira, puis au laboratoire de microbiologie de l'université de la même ville durant une période de 02 mois, allant du 01 avril au 31 mai 2017, nous a permis de collecter 11 échantillons provenant du collecteur principal (station de relevage) des eaux usées de la STEP, tous révélés positifs.

Les souches isolées, puis identifiées sont au nombre de 22 espèces et appartiennent toutes à la famille des *Enterobacteriaceae*. A l'opposé, il ya absence totale de souches appartenant à la famille des *Staphylococcus* et à celle des *Entérocooccus*.

L'espèce *E. coli* se trouve dominante (22.72%), suivie de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp* et *Pseudomonas aeruginosa* (13.63%).

*Klebsiella oxytoca* et *Providencia sp* ne sont présentes que faiblement (04.54%), et *Acinetobacter* est complètement absent.

Les tests de sensibilité de ces souches vis-à-vis d'une série de 12 ATB, toutes classes confondues, confirment l'importante ampleur prise par l'apparition des bactéries résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, surtout aux  $\beta$ -lactamines, dans notre zone d'étude.

*Mots-clés* : Bactérie, multi-résistance, antibiotique, Eau usées, ATB, BMR, STEP.

---

## Abstract

Our work focuses on the search and the identification of multi-drug resistant bacteria, isolated from the wastewater of the city of Bouira, and then on the study of their resistance to antibiotics.

The isolated and identified strains were 22 species, and were confirmed as *Enterobacteriaceae*. At the opposite *Staphylococcus* and *Entérocooccus* were totally absent.

*E.coli* Was the predominant species with 22.72%, it's followed by *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp*, *Serratia sp* and *Pseudomonas aeruginosa* (13.63%).

*Klebsiella oxytoca* and *Providencia sp* are less present's (04.54%), and *Acinetobacter* were totally absent.

The tests on the susceptibility of the trains to the 12 series of antibiotics (all antibiotics classes) confirm the importance that multi-drug resistant bacteria has taken, especially to the  $\beta$ -lactamines, in our study area.

*Keywords*: Bacteria, multi-resistance, antibiotics, waste water