

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



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Professionalisant Filière : Sciences biologiques, Spécialité :
Microbiologie et Hygiène Hospitalière

Par : SIAH Rayene

Thème

L'antibiorésistance en milieu hospitalier

Jury d'évaluation :

Président de jury: Dr.CHENTLI A.

Rapporteur: Dr. DIB A.L.

Examineur :Dr.ZITOUNI H.

Maitre de conférences « B » UFM, Cne 1

Maitre de conférences «A » UFM, Cne 1

Maitre de conférences «B » UFM, Cne 1

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019-2020

Remerciements

بِسْمِ اللَّهِ وَالْحَمْدُ لِلَّهِ

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à Allah et au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toutes ma gratitude. La liste des remerciements risque d'être longue et dans le doute où certains auraient été oubliés.

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

J'adresse mes plus sincères remerciements au

Dr. DIB Amira Leila

Pour avoir accepté de m'accueillir au sein du laboratoire de bactériologie à l'institut des sciences vétérinaires d'El-Khroub et de m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail.

Je remercie les membres de jury : Dr BENHAMDI et Dr ZITOUNI Pour avoir accepté de consacrer du temps et d'apporter leur regard critique sur ce travail.

*Nous tenons également à remercier Dr. Gagaoua M. pour son aide et ses orientations
J'adresse aussi mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidées,
soutenues et qui m'ont tendues la main quand j'en avais besoin.*

Dédicaces

Grace Allah je dédie ce modeste travail :

À toi très cher papa Siah Abdelouahab pour ta grandeur d'âme, et ta patience.

À toi Ma chère maman: Boukala Rabiaa pour ta générosité, ta présence, et ton soutien.

À mes sœurs : Youssra et son mari Mouhamed Laarbi, Maïssa, Aya et Chaima.

*Tout particulièrement, à toi Nor el Islme,
Mon cher et unique frère, soit fier de moi aujourd'hui.*

À ma Grand-Mère : Beldi Messaouda.

À toute ma famille surtout Hamza Thouahra et Zakaria Benammar.

Et à tous mes amis surtout : Khadidja et Roumaïssa.

Reyene.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : Bactéries et antibiorésistance

I.1. Les bactéries à gram positif et à gram négatif	1
I.2. Les Antibiotiques	5
I.2.1. Les types d'antibiotiques	5
I.2.1.1. Origine naturelle	5
I.2.1.2. Origine naturelle	5
I.2.2. Classification des antibiotiques	5
I.2.2.1. Les β lactamines	5
I.2.2.2. Les aminosides ou aminoglycosides	6
I.2.2.3. Les Phenicoles	6
I.2.2.4. Les tétracyclines	6
I.2.2.5. Les polypeptides	6
I.2.2.6. Les macrolides	7
I.2.2.7. Les quinolones	7
I.2.2.8. Les rifamycines	7
I.2.3. Mode d'action des antibiotiques	7
I.2.3.1. Sur la paroi bactérienne	8
I.2.3.2. Sur la membrane cytoplasmique	8
I.2.3.3. Action Sur l'ARN des ribosomes	9
I.2.3.4. Sur l'ADN bactérien	9
I.2.3.5. Les antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire	9
I.3. La résistance et la multirésistance bactérienne	9
I.3.1. La résistance	9
I.3.2. Types de résistance	10
I.3.2.1. La résistance naturelle	10
I.3.2.2. La résistance acquise	10
I.3.3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques	12

I.3.3.1. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes	12
I.3.3.2. Le blocage de la pénétration dans la cellule	12
I.3.3.3. La modification de la cible du médicament	13
I.3.3.4. L'expulsion du médicament	13
I.3.4. Emergence et propagation de la résistance	13
I.3.5. Réservoir de la résistance aux antibiotiques	13
I.3.6. Transmission de la résistance à l'homme	14
I.3.6.1. La transmission directe à l'hôpital	14
I.3.6.2. La transmission via l'alimentation d'origine animale	14
I.3.6.3. Le transfert de gène de résistance de l'animal à l'homme	15
I.3.7. La multirésistance	15
I.3.7.1. Définition	15
I.3.7.2. Les différents Type des BMR	15
I.3.7.3. Localisation des BMR	17
I.4 Les moyens de lutte contre les bactéries multi-résistantes	18
I.4.1. Le bon usage des antibiotiques	18
I.4.2. La maîtrise des mesures d'hygiène	18
I.4.2.1. Les précautions standard	19
I.4.2.2. Les précautions complémentaires	20
I.4.2.3. Le nettoyage et la désinfection au niveau des hôpitaux	21

Chapitre II : Les Méthodes d'analyse

II.1. Méthodologie de recherche	23
II.1.1. Types de prélèvements	23
II.1.2. Techniques de prélèvement des surfaces d'environnement hospitalier	23
II.1.2.1. Méthode par empreinte gélosée	23
II.1.2.2. Méthode par écouvillonnage	24
II.1.2.3. Prélèvement par essuyage	24
II.1.3. Ensemencement des prélèvements	25
II.1.4. Les méthodes d'identification	26
II.1.4.1. Identification macroscopique	26
II.1.4.2. Identification microscopique	26
II.1.4.3. Les méthodes d'identification basées sur les tests biochimiques et les tests de pathogénicité	27

II.1.4.4. Les méthodes d'identifications automatisées	29
II.1.4.5. Les méthodes d'identification basées sur les tests moléculaires	30
II.1.5. L'antibiogramme	31
II.1.5.1. La méthode des dilutions	31
II.1.5.2. La méthode diffusimétrique	31

Chapitre III : Analyse des données & Discussion

III.1. Objectif	33
III.2. Méthodologie de recherche et critères de sélection	33
III.3. Analyse des données	34
III.3.1. Les souches bactériennes résistantes	40
III.3.2. La résistance des isolats aux antimicrobiens	41
III.3.3. Répartition des bactéries isolées selon les surfaces prélevées	43
III.4. Discussion	44
Conclusion	48
Références bibliographiques	49

Liste des abréviations

- ADH**: Arginine
- AMPc** : Adénosine monophosphate cyclique
- BGN** : Les bactéries à Gram négatif
- BGP** : Les bactéries à Gram positif
- BMR** : Les bactéries multi résistantes
- CMI** : La concentration minimale d'inhibition
- EBLSE** : Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu
- EN** : Normes européennes
- ERV** : Les entérocoques résistants à la vancomycine
- GEL** : Gélatine emprisonnant des particules de charbon
- IN**: Les infections nosocomiales
- ISO**: International Organization for Standardization
- LPS** : Lipopolysaccharide
- NF** : Norme française, norme AFNOR
- OMS** : L'organisation mondiale de la santé
- ONPG** : Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside
- PCH** : les précautions complémentaires d'hygiène
- PLP** : Protéines de liaison aux pénicillines
- SARM** : *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline

Liste des tableaux

Tableaux	Intitulés	Pages
1	Fonction des différents éléments d'une cellule bactérienne	3
3	Localisation des BMR en milieu hospitalier	16
4	Synthèse des résultats	33
5	La résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les 15 études	41

Liste des figures

Figures	Intitulés	Pages
1	Schéma simplifié de la cellule bactérienne	1
2	Différence pariétale entre les bactéries à Gram (-) et à Gram (+)	3
3	Les principales cibles des antibiotiques	8
4	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques	11
5	Représentation graphique des différents niveaux de mesures à appliquer pour maîtriser la diffusion de la transmission croisée	18
6	Représentation schématique d'un prélèvement de surface par écouvillonnage	23
7	Techniques de prélèvement surfacique par essuyage	24
8	Automate d'identification et d'antibiogramme Vitek 2	28
9	Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse de type MALDI-TOF	29
10	Détermination de la CMI par méthode E-TEST	31
11	Les espèces bactériennes résistantes aux antibiotiques selon les 15 études	40
12	Répartition de la résistance des bactéries isolées aux antimicrobiens selon les 15 études	41
13	Répartition des différents sites contaminés par les bactéries multi-résistantes selon les 15 études	44

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des infections absentes au moment d'une hospitalisation dans un établissement de santé mais qui surviennent 48 heures après l'admission (**Laktib et al, 2018**). Par ailleurs, les antibiotiques jouent un rôle crucial dans la lutte contre ces infections et de nombreuses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques.

En outre, cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, vu le nombre de nouvelles résistances bactériennes en émergence et en augmentation continue (**Boukhatem, 2013**).

En effet, la diffusion des agents pathogènes nosocomiaux résistants aux antibiotiques peut être liée à l'environnement hospitalier et à la transmission directe de patient à patient. Par ailleurs, des études récentes démontrent que les surfaces et les équipements médicaux sont souvent une source d'infections et peuvent héberger des bactéries multi-résistantes (MDR).

Ce phénomène est considéré comme un problème de santé publique associé à une morbidité élevée et une létalité importante (**Laktib et al, 2018**).

Enfin, afin de mieux comprendre ce phénomène, nous avons jugé important de nous pencher sur la question de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées en milieu hospitalier.

Ainsi, ce mémoire est scindé en 3 parties. Les deux premiers chapitres traitent des informations sur les bactéries, les antibiotiques, leurs principaux mécanismes d'action et les multi-résistances bactériennes. Quant au troisième chapitre, il consiste en une analyse de données basée sur plusieurs travaux internationaux et a pour objectif de synthétiser des résultats à partir de 15 études de différents pays afin de déterminer les bactéries multi-résistantes les plus fréquentes en milieux hospitaliers, les antibiotiques auxquels elles sont le plus souvent résistantes et les surfaces fréquemment contaminées.

Chapitre I : Bactéries et antibiorésistance

I.1. Les bactéries à gram positif et à gram négatif

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire, de morphologie variable elles présentent des caractéristiques propres. Ainsi, la plupart des bactéries ont une taille de l'ordre de 1 à 10 μm . Toutefois, il existe certaines espèces qui peuvent atteindre 500 μm telles que certains spirochètes et d'autres qui au contraire ne dépasseront pas 0,1 μm comme *Mycoplasma sp.* (ZIAI, 2014).

De plus, les bactéries sont constituées d'un certain nombre d'éléments toujours présents chez toutes les espèces bactériennes et d'autres qui ne sont présents que dans quelques espèces. En effet, ces premiers sont qualifiés d'éléments obligatoires et les seconds d'éléments facultatifs (figure 1) (ZIAI, 2014).

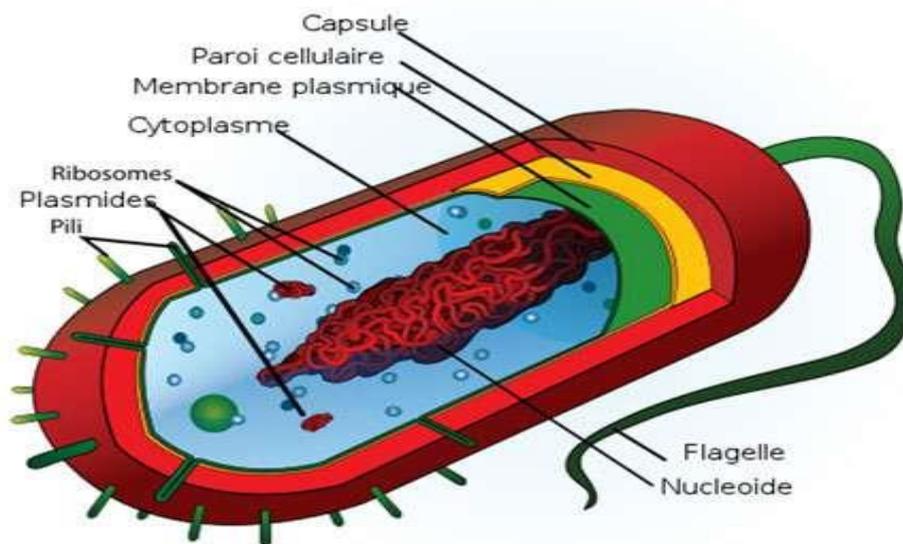


Figure 1 : Schéma simplifié de la cellule bactérienne (Anonyme 1)

D'autre part, il existe deux grands groupes de bactéries, les bactéries à Gram (-) et les bactéries à Gram (+). Leur distinction repose sur la différence de composition pariétale. En plus, les deux groupes possèdent en commun un constituant essentiel, spécifique au monde bactérien dont le peptidoglycane (ZIAI, 2014).

- ❖ **Les bactéries à Gram positif (BGP) :** le peptidoglycane est la partie la plus externe de la bactérie. Il est plus épais chez les bactéries à Gram négatif et entoure la membrane cytoplasmique de la bactérie.

- ❖ **Les bactéries à Gram négatif (BGN)** : la paroi bactérienne contient un élément supplémentaire, la membrane externe, entourant le peptidoglycane qui est plus fin que chez les bactéries à Gram positif (**Guide pratique des bactéries pathogènes, 2017**).

La paroi des bactéries à Gram positif (G+) est riche en acides teichoïques, absents chez les bactéries à Gram négatif (G-) et en acide diaminopimélique, moins abondant chez les Gram négatif, lesquelles ont une paroi plus riche en lipides.

Chez les bactéries à Gram négatif, il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane (5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne). Mais des polymères situés en dehors du peptidoglycane (qui forme la paroi bactérienne) viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une membrane externe qui contient du lipopolysaccharide.

D'autre part, les lipoprotéines sont le lien entre le peptidoglycane et la membrane externe. Ainsi, le composant protéine est un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le térapeptide des chaînes latérales du peptidoglycane et le composant lipide est relié à la membrane externe.

Par contre, la membrane externe est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle une partie ou toutes les parties des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacées par des molécules de lipopolysaccharide. Au sein de cette membrane externe, qui est une mosaïque fluide, se trouvent associés au moins deux types de protéines spécifiques, certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe (OMP-A), d'autres, appelées porines, permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques (β -lactamines, tétracyclines, quinolones) (figure2).

Sur le plan immunologique, le lipopolysaccharide (LPS) constitue l'antigène « O » des bactéries à Gram négatif. Le LPS est un lipide complexe auquel est attaché un polysaccharide qui est responsable de la spécificité antigénique de l'antigène « O ».

Sur le plan physiopathologique, le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif (**ZIAI, 2014**).

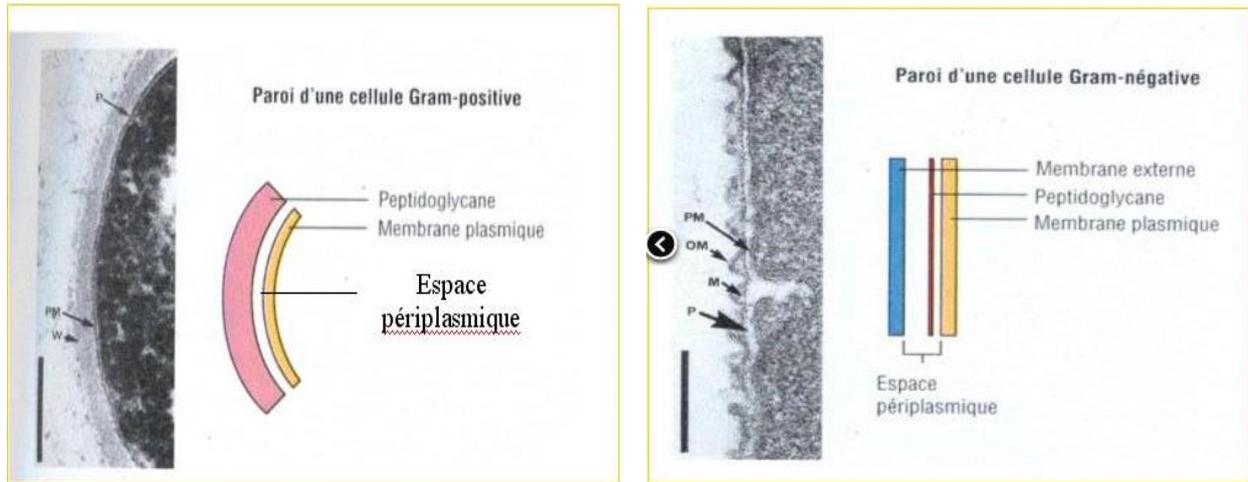


Figure2 : Différence pariétale entre les bactéries à Gram (-) et à Gram (+) (Anonyme 3).

Le tableau 1, explique succinctement la fonction des principaux éléments de la cellule bactérienne (ZIAI, 2014) (Anonyme 4).

❖ **Fonction des différents éléments d'une cellule bactérienne**

Le tableau ci-dessous indique les fonctions des différents éléments d'une cellule bactérienne.

**Tableau 1 :Fonction des différents éléments d'une cellule bactérienne (ZIAI, 2014)
(Anonyme 4).**

Structures	Eléments	Fonctions
Obligatoires	Paroi	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Constituant principal = mucopeptide ➤ Enveloppe rigide ➤ Détermine la forme de la bactérie et lui confère sa résistance ➤ Régulation de la pression osmotique ➤ Bactérie à gram négatif : Pouvoir pathogène du fait de la présence d'un LPS (lipopolysaccharide, qui agit comme une endotoxine) ➤ Propriétés antigéniques de certains constituants
	Membrane Cytoplasmique	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Barrière semi-perméable (passage molécules lipophiles) ➤ Enzymes et protéines membranaires (chaînes respiratoires, excrétion de substances dans le périplasme, transport de molécules) ➤ Rôle important dans le processus de chimiotactisme, site de fixation des flagelles
	Cytoplasme	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Délimité par membrane cytoplasmique ➤ Gel colloïdal contenant les différents éléments cellulaires
	Ribosome	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Synthèse protéique
	ADN Chromosomique	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Support de l'information génétique
Facultatives	Capsule ou Glycocalyx	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Enveloppe, facilite l'adhérence aux cellules et l'échappement à la phagocytose
	Plasmides	<ul style="list-style-type: none"> ➤ ADN bicaténaire extra-chromosomique ➤ Information génétique supplémentaire
	Pili et fimbriae	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Surtout chez les bactéries à Gram négatif ➤ Pili communs ou fimbriae : adhésion aux cellules ➤ Pili sexuels : participent au processus de conjugaison bactérienne
	Cils et flagelles	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Appareil locomoteur
	Spores	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Structure de résistance qui se forme lorsque les conditions deviennent défavorables.

Ainsi, la bactérie se multiplie par fission binaire, grandit puis se divise en deux cellules filles séparées par un septum de division formé par la paroi cellulaire. Durant la division, l'ADN se duplique ainsi que les autres constituants et donne deux bactéries identiques et ainsi de suite (**Anonyme5**).

I.2. Les Antibiotiques

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter les cellules humaines.

Ainsi, ils permettent aux défenses naturelles du corps comme le système immunitaire de les éliminer (HNICH, 2017).

I.2.1. Les types d'antibiotiques

Il existe des antibiotiques d'origine naturelle ou synthétique

I.2.1.1. Origine naturelle

Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20 % proviennent de champignons comme *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*, 70 % proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre *Streptomyces* considéré comme un producteur majeur d'antibiotiques tels que les tétracyclines, les aminoglycosides et 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* (SAADAoui, 2008).

I.2.1.2. Origine synthétique

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue les sulfamides, les métronidazoles, les isoniazides, l'acide nalidixique, les fluoroquinolones, et les pénèmes. On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétiques, obtenus suite à une modification au niveau du laboratoire d'une substance produite par un microorganisme (SAADAoui, 2008).

I.2.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action.

Les principales familles sont :

I.2.2.1. Les β lactamines

Les bêta-lactamines sont des molécules qui ont un anneau betalactame commun à tous les antibiotiques de cette famille. Leur mécanisme d'action est le suivant :

- Pénétration jusqu'à la membrane cytoplasmique
- Fixation aux pénicilline binding protéines, des protéines localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et dont certaines ont une activité de carboxypeptidase,

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

- Inhibition de la transpeptidation
- Activation des autolysines
- Mort cellulaire accompagnée souvent de lyse cellulaire (SAADAOU, 2008).

I.2.2.2. Les aminosides ou aminoglycosides

Ce sont des substances fortement polaires, qui se caractérisent par la présence d'un groupement cationique sur un anneau inositol et d'un ou plusieurs sucres aminés. Ils agissent en se fixant sur la sous unité 30S, à concentration subthérapeutique et entraînent des erreurs de lecture. A dose thérapeutique, ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation. En plus, en diminuant l'AMP cyclique intracellulaire, ils perturbent la barrière de perméabilité de la membrane cytoplasmique, ce qui conduit à la fuite vers l'extérieurs des constituants intracellulaires (SAADAOU, 2008).

I.2.2.3. Les phenicoles

Ils s'attachent à la sous unité 50S du ribosome en empêchant l'attachement des amino-acyl-Trna et en inhibant la formation des liaisons peptidiques (SAADAOU, 2008).

Parmi ces antibiotiques :

❖ Le chloramphénicol

C'est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde (YALA *et al*, 2001).

❖ Le thiamphénicol

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol et son spectre d'action est similaire (YALA *et al*, 2001).

I.2.2.4. Les tétracyclines

Les tétracyclines sont bactériostatiques, présentant une grande homogénéité, elles pénètrent bien dans les cellules et se lient de façon réversible aux sous unités 30S du ribosome en empêchant l'attachement des amino-acyl-tRNA au site A du ribosome (SAADAOU, 2008).

I.2.2.5. Les polypeptides

Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance bactérienne (MESKINE, 2016).

I.2.2.6. Les macrolides

Ce sont des antibiotiques lipophiles constitués par un noyau laconique composé de 12 à 16 atomes. Sur cette structure sont fixés des sucres. De plus, ils agissent en se fixant sur la sous unité 50S et inhibent la transpeptidation et la translocation (SAADAOU, 2008).

I.2.2.7. Les quinolones

Plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antibactérien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques. Aussi, schématiquement on peut classer les quinolones sur la base de l'étendue du spectre antibactérien et la nature fluorée ou non du squelette en deux groupes :

- Les quinolones de première génération comme l'acide nalidixique : Negram®, l'acide oxolinique : Urotrate®
- Les quinolones de deuxième génération telles que Ofloxacin : Oflocet, Levofloxacin (MESKINE, 2016).

I.2.2.8. Les rifamycines

Elles sont constituées d'un macro-cycle et d'un cycle aromatique.

- Elles bloquent la transcription par la liaison à la RNA-polymérase bactérienne
- Elles sont actives contre les bactéries à gram positif et les coques à gram négatif mais sont utilisées surtout contre les mycobactéries (tuberculose)
- La résistance est fréquente
- Elles sont actives par voie orale (SAADAOU, 2008).

I.2.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent avoir 2 modes d'action:

- Action bactériostatique: Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbiens.
- Action bactéricide: Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines (SAADAOU, 2008).

Ils peuvent agir sur 5 parties différentes de la structure de la bactérie (figure 3).

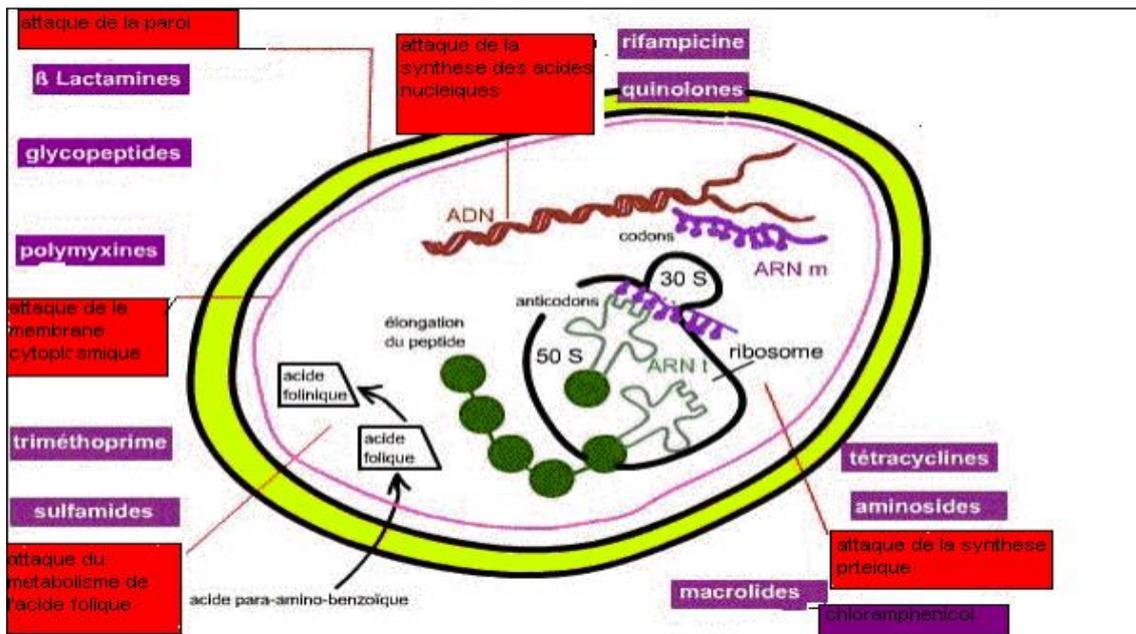


Figure 3 : Les principales cibles des antibiotiques (SAADAOU, 2008).

I.2.3.1. Sur la paroi bactérienne

Ces antibiotiques agissent sur des cibles extérieures de la cellule (paroi) en inhibant la synthèse de la paroi et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance. Ainsi, les cellules au repos ne sont pas perturbées par l'action des antibiotiques et de leurs molécules. De même, les antibiotiques bloquent la synthèse du peptidoglycane, la cellule s'allonge sans faire de paroi et ainsi explose sous l'effet de la pression osmotique interne (MESKINE, 2016).

I.2.3.2. Sur la membrane cytoplasmique

Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. De plus, la fixation de l'antibiotique va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméables, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie (MESKINE, 2016).

I.2.3.3. Sur l'ARN des ribosomes

Les ribosomes sont des organites présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes (cellule bactérienne). La plupart des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes interfèrent avec la synthèse protéique en induisant des erreurs de synthèse ou en inhibant cette synthèse. La cellule bactérienne est ainsi dans une incapacité de synthétiser des protéines qui lui sont vitales (LEULMI, 2015).

I.2.3.4. Sur l'ADN bactérien

Il s'agit de l'inhibition de la synthèse ou même du fonctionnement des acides nucléiques de différentes façons selon les familles d'antibiotiques soit par :

1. Inhibition de la réplication de l'ADN
2. Inhibition de la transcription / ARN polymérase
3. Diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques (MESKINE, 2016).

I.2.3.5. Les antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire

Par inactivation d'enzymes impliqués dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels (MESKINE, 2016).

I.3. La résistance et la multirésistance bactérienne

I.3.1. La résistance

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a défini la résistance bactérienne aux antibiotiques dès 1961 de deux façons différentes :

I.3.1.1. Définition thérapeutique: Une souche est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotiques qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo.

I.3.1.2. Définition épidémiologique : Une souche est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (EL ABDANI, 2016).

I.3.2. Les types de résistance

I.3.2.1. La résistance naturelle

C'est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée, elle est stable transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (**BOUDJEHEM *et al*, 2018**).

I.3.2.2. La résistance acquise

Les bactéries peuvent développer la résistance à un ATB auquel elles sont préalablement sensibles, ce qui implique des changements génétiques. En effet, il s'agit de l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie résistante à un antibiotique. De plus, une espèce bactérienne peut être résistante à plusieurs antibiotiques selon des mécanismes différents (**BOUDJEHEM *et al*, 2018**).

❖ La résistance chromosomique

Elle résulte d'une mutation et n'est pas provoquée par la présence de l'antibiotique. Cependant, l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles qui restent sensibles à l'action de l'antibiotique. Par ailleurs, il s'agit d'un phénomène indépendant et l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques.

En effet, la probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue l'un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle est transmissible et permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). De plus, toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique (**LOZNIEWSKI, 2010**).

❖ La résistance extra-chromosomique

- Plasmides

Les plasmides sont de petits fragments d'ADN double brin, circulaires et cytoplasmiques, capables de réplication autonome. Cependant, les plasmides peuvent conférer à leur hôte des aptitudes qui dans certains cas lui donnent un avantage sélectif. Ce dernier peut

provenir d'une résistance à un antibiotique ou encore de la possibilité d'utiliser une nouvelle voie métabolique (**BOUDJEHEM *et al*, 2018**).

- Les transposons

Les transposons ou éléments génétiques transposables sont des séquences d'ADN double brin linéaires, qui n'apparaissent jamais à l'état libre, n'ayant pas d'existence autonome stable, ils peuvent s'insérer à différents endroits dans un génome ou plasmide pour être dupliqués et exprimés. Ces éléments "sauteurs" comprennent généralement des gènes de résistance ou facteurs impliqués dans la pathogénicité (**BOUDJEHEM *et al*, 2018**).

❖ Résistance par acquisition des gènes transférés

Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Ainsi, les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces et de genres différents dont la transformation, la transduction et la conjugaison

D'autre part, les gènes de résistance aux antibiotiques, sont pour la plupart chromosomiques et proviennent généralement de micro-organismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés. Par contre, le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons, les intégrons ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (**MESKINE, 2016**).

❖ La résistance croisée

On parle de résistance croisée, lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre, composé par un seul et même mécanisme biochimique. De plus, le phénomène de résistance croisée peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotiques, comme c'est le cas pour les 120 sulfamides, ou peut être limité à quelques membres d'un groupe, comme pour les aminoglycosides, ou bien peut impliquer des antimicrobiens appartenant à des classes différentes (**EL ABDANI, 2016**).

❖ La co-résistance

La co-résistance se définit, quant à elle, comme l'existence au sein d'une bactérie de plusieurs mécanismes conférant chacun une résistance à diverses familles d'antibiotiques.

Ainsi, les gènes correspondants sont souvent adjacents (physiquement liés) et exprimés d'une façon coordonnée comme dans les intégrons (**EL ABDANI, 2016**).

I.3.3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les modifications génétiques permettent aux bactéries de se défendre contre l'action des antibiotiques soit en se rendant imperméables à leur pénétration, en produisant des enzymes capables de les inactiver, en modifiant la structure de leurs cibles ou bien en les expulsant par un mécanisme d'efflux (figure 4) (FOSSEPREZ, 2013).

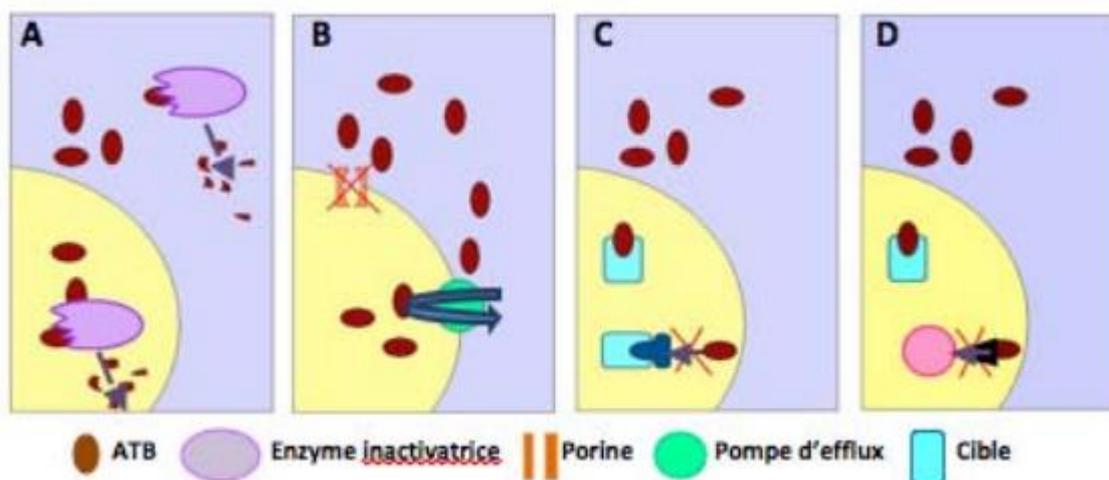


Figure 4 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (FOSSEPREZ, 2013).

I.3.3.1. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes

Comme la production de bêta-lactamases codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables. Ainsi, le nombre des bêta-lactamases plasmidiques est très élevé et leur permet d'être classées selon leurs vitesses d'hydrolyse, leurs constantes d'affinité pour les bêta-lactamines, leur faculté à être inhibées par des inhibiteurs tels que l'acide clavulanique (EL ABDANI, 2016).

I.3.3.2. Le blocage de la pénétration dans la cellule

Les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que les autres aux antibiotiques. Ainsi, les structures de leurs parois cellulaires limitent l'absorption de nombreuses molécules en obligeant celles-ci à passer par des ouvertures appelées porines. De plus, chez certains mutants les porines sont modifiées si bien que les antibiotiques ne peuvent pas pénétrer dans l'espace péri plasmique. En effet, lorsqu'il y a des B-lactamases dans l'espace périplasmique, l'antibiotique qui est parvenu jusque-là est attaqué et inactivé (MESKINE, 2016).

I.3.3.3. La modification de la cible du médicament

Par modification des protéines liant les pénicillines (PLP), qui sont des enzymes catalysant l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne), et qui sont la cible des bêta-lactamines. En effet, en se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle et la synthèse du peptidoglycane est donc entravée (**BOUDJEHEM *et al*, 2018**).

I.3.3.4. L'expulsion du médicament

Certaines protéines de la membrane plasmiques des bactéries à Gram négatif sont des pompes qui expulsent les antibiotiques et les empêchent d'atteindre la concentration requise pour qu'ils soient efficaces. En effet, c'est avec la tétracycline que ce mécanisme a été observé pour la première fois (**MESKINE, 2016**).

I.3.4. Emergence et propagation de la résistance

L'administration répétée d'antibiotiques chez l'homme ou chez l'animal crée ce que l'on appelle une pression de sélection qui tend à favoriser les mutations et les échanges plasmidiques, responsables d'acquisition de résistances aux antibiotiques. Elle tend ainsi à éliminer les bactéries sensibles pour laisser place aux bactéries résistantes. Effectivement, la réduction de la pression sélective des antibiotiques est importante pour prévenir l'émergence d'une résistance microbienne et préserver le plus longtemps possible l'efficacité des médicaments disponibles.

En outre, la pression de sélection des antibiotiques, ainsi que la lutte inadéquate contre les infections, comme un lavage des mains absent ou inefficace, ou un défaut de vaccination, contribuent à la propagation des souches résistantes.

Ainsi, la résistance aux antibiotiques se développe à grande échelle selon les étapes suivantes :

- Sélection d'organismes résistants ;
- Elimination de la flore sensible au médicament et colonisation avec des microorganismes résistants ;
- Contact d'une personne à l'autre et transmission dans l'environnement ;
- Transmission globale (**FOSSEPREZ, 2013**).

I.3.5. Réservoirs de la résistance aux antibiotiques

La flore intestinale de l'homme et des animaux est considérée comme un environnement privilégié en termes de compartiment de sélection, d'amplification des bactéries résistantes et des gènes de résistance. D'autres flores commensales comme la flore cutanée, la flore oro-

pharyngée, la flore vaginale sont également exposées au traitement par antibiotiques. Toutefois, ces flores bactériennes sont moins denses que la flore intestinale. Elles sont aussi moins étudiées dans le cadre de la sélection de la résistance aux antibiotiques. Cependant, les mécanismes généraux de sélection et d'amplification de la résistance sont comparables dans tous les types de flore (STEPHANIE, 2009).

I.3.6. Transmission de la résistance à l'homme

Les bactéries évoluent rapidement non seulement par mutation et multiplication mais également par acquisition du matériel génétique exogène. Ainsi, la résistance par accumulation de mutations est supposée présenter un risque minimum de dissémination des gènes, alors que la résistance par acquisition de gènes exogènes a un fort potentiel de diffusion car elle est dans la plupart des cas portée par des éléments génétiques mobiles. De plus, l'absence d'étanchéité entre les écosystèmes animal -homme – environnement, aggrave d'un point de vue santé publique le risque de dissémination de la résistance aux antibiotiques (MESKINE, 2016).

I.3.6.1. La transmission directe à l'hôpital

L'état immunodéprimé transitoire du patient, ajouté aux traitements par antibiotiques peut favoriser la sélection et la colonisation d'un germe infectieux résistant déjà présent chez l'individu. A cela s'ajoute la transmission entre patients malades porteurs de souches résistantes (transmission croisée) et le contact direct avec le personnel hospitalier. Ainsi, les mesures d'hygiène professionnelles mises en place à l'hôpital ont également montré une certaine efficacité à contrôler et à limiter la transmission des bactéries en milieu hospitalier (MESKINE, 2016).

I.3.6.2. La transmission via l'alimentation d'origine animale

Le rôle de la chaîne alimentaire dans la transmission de bactéries résistantes est non seulement possible mais certains arguments attestent de sa réalité pour certains pathogènes comme *Salmonella*. En effet, de nombreux rapports notent effectivement la présence de bactéries productrices de CTX-M dans l'alimentation d'origine animale. En 2004, à la suite d'une épidémie à salmonelle survenue en France, une étude de cas a permis de constater que les malades infectés par *Salmonella enterica* résistante à la ceftriaxone avaient consommé de la viande chevaline importée, hébergeant une souche de *S. enterica* Newport véhiculant le gène de résistance *bla*CMY-2 (MESKINE, 2016).

I.3.6.3. Le transfert de gène de résistance de l'animal à l'homme

Même si l'origine animale d'une toxi-infection alimentaire à des bactéries résistantes aux antibiotiques est facile à mettre en évidence chez l'homme, l'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal des bactéries d'origine animale aux bactéries d'origine humaine est plus complexe à démontrer. En effet, les principaux rapports épidémiologiques récents affirment la présence de plasmides conjugatifs communs à plusieurs souches résistantes retrouvées aussi bien chez l'homme que chez l'animal et suggèrent un potentiel de transfert de plasmides porteurs de résistance entre l'homme et l'animal. D'autres auteurs ont rapporté l'existence de déterminants de résistance communs chez des bactéries isolées chez l'homme et l'animal (MESKINE, 2016).

I.3.7. La multirésistance

I.3.7.1. Définition

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 (MESKINE, 2016).

Ainsi, la multi-résistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires comme les pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Par ailleurs, certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de se 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 β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) (VINCENT, 2000).

I.3.7.2. Les différents Types des BMR

❖ Hospitaliers

- *S.aureus* est l'une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Ainsi, le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. En effet, les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées dans les infections nosocomiales(IN) et sont résistants à toutes les β -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones.

- Les entérobactéries (ESBL) dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'IN. En effet, les BLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN. Ainsi, la tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. En outre, les souches d'EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteraerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp* sont résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème) et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (VINCENT, 2000).
- Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) : représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement :

-*Acinetobacter baumannii* : représente 2 à 4% des bactéries responsables d'IN. Ces espèces jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. De plus, certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques.

-*Pseudomonas aeruginosa multirésistant* : Ainsi, les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux β -lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. En effet, dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques et des mesures de contrôle de l'environnement (VINCENT, 2000).

❖ Communautaire

Les BMR communautaires sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers.

Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistance relativement faible, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose.

- *Streptococcus pneumoniae* : est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites, la pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances aux sulfamides, tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol. La résistance du pneumocoque aux β -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). Par ailleurs, la

surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections pneumococquiques.

- Bacille de la tuberculose : le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie. Ainsi, la tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2 antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces. En effet, la mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine, expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante (ZNAZEN *et al*, 2004 ; ZNAZEN *et al*,2006).

I.3.7.3. Localisation des BMR

La propagation des BMR selon les services et leurs particularités est mentionnée ci-dessous :

Tableau 2 :La localisation des BMR en milieu hospitalier (MESKINE, 2016).

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

I.4. Les moyens de lutte contre les bactéries multi-résistantes

La dissémination des BMR est la conséquence de deux déterminants dont, la pression de sélection des antibiotiques responsables de l'émergence des BMR et la transmission croisée responsable de la diffusion des BMR.

Donc, la lutte contre les BMR s'articule autour de deux axes, le bon usage des antibiotiques et la maîtrise des mesures barrières d'hygiène.

I.4.1. Le bon usage des antibiotiques

La pression de sélection des antibiotiques est définie par la présence d'antibiotiques perturbant le métabolisme d'une souche bactérienne et favorisant son adaptation par l'apparition d'un mécanisme de résistance à cet antibiotique. Ainsi, le principal effet indésirable des antibiotiques est l'émergence de résistance bactérienne par définition. Afin de réduire cette pression de sélection, il est nécessaire de progresser dans le bon usage des antibiotiques privilégiant l'utilisation de molécules exerçant le plus faible pouvoir de sélection sur les BMR et uniquement lorsque cela est nécessaire, mais aussi de limiter la surconsommation (RENAUDIN, 2016).

I.4.2. La maîtrise des mesures d'hygiènes

Elles s'échelonnent sur 3 niveaux dont les précautions standard, les précautions complémentaires d'hygiène et les précautions spécifiques appliquées pour les bactéries hautement résistantes et émergentes (BHRe - ne concernent pas les BMR) (figure 5) (RENAUDIN, 2016).

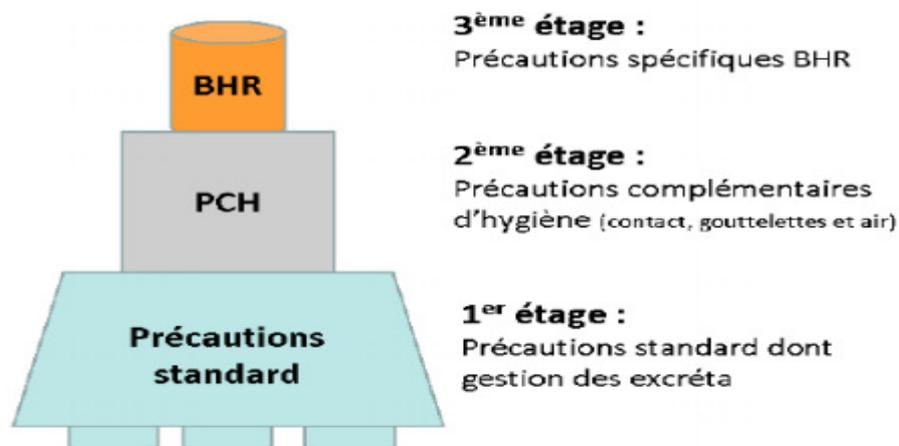


Figure5 : Représentation graphique des différents niveaux de mesures à appliquer pour maîtriser la diffusion de la transmission croisée (RENAUDIN, 2016).

I.4.2.1. Les précautions standard

Elles représentent les premières mesures barrières à mettre en œuvre. En effet, elles sont le socle indispensable de la prévention de la transmission croisée et du risque infectieux, et doivent être appliquées par tout soignant et pour tout patient quel que soit son statut

infectieux (connu ou présumé) et le lieu de sa prise en charge, pour limiter la transmission croisée de micro-organismes et assurer une protection systématique des autres patients, des personnels de santé et de l'environnement de soin.

❖ Hygiène des mains

La fréquence de la contamination des mains est estimée à 17% après contact avec un patient porteur d'une BMR (DALI, 2015).

Ainsi, la désinfection systématique des mains à cinq moments clés :

- Avant tout contact avec le patient,
- Avant un geste aseptique,
- Après un risque d'exposition à un liquide biologique,
- Après le contact avec le patient,
- Après le contact avec l'environnement du patient.

En outre, l'antisepsie des mains par friction avec une solution (ou un gel) hydro alcoolique est la méthode actuellement à privilégier en matière d'hygiène des mains pour le contrôle de l'infection nosocomiale (MERIAH *et al*, 2017).

❖ Port de gants

Les gants sont changés entre deux patients ou deux activités (y compris pour le même patient). Ils sont mis juste avant le contact, le soin ou le traitement. De plus, ils sont retirés dès la fin du soin pour être jetés avant de toucher l'environnement.

D'autre part, le port de gants lors d'un contact avec un liquide biologique est nécessaire afin de protéger le soignant du risque infectieux.

Ainsi, la recommandation est une paire de gants pour un soin et chaque retrait de gants est accompagné d'un geste d'hygiène des mains (MERIAH *et al*, 2017).

❖ Port d'un masque

Le port d'un masque de soins à usage unique par le personnel soignant est recommandé lors de la prise en charge d'un patient présentant une infection respiratoire impliquant un micro-organisme, notamment les SARM :

- A proximité du patient à l'intérieur de la chambre ;
- Lors de soins directs (MERIAH *et al*, 2017).

❖ La tenue professionnelle

La tenue professionnelle est adaptée à l'activité pratiquée (tablier plastique ou sur blouse imperméable). De plus, elle est changée quotidiennement et chaque fois lors des soins souillant, mouillant ou exposant aux projections de liquides biologiques (MERIAH *et al*, 2017).

I.4.2.2. Les précautions complémentaires

- Dépistage des porteurs de BMR à l'admission en réanimation

Les patients porteurs de BMR constituent un réservoir à partir duquel ces bactéries peuvent se disséminer. C'est pourquoi une stratégie de dépistage permet d'identifier les patients porteurs asymptomatiques qui constituent un réservoir de BMR, puis de mettre en place les précautions complémentaires d'hygiène (PCH) requises pour limiter la transmission croisée des BMR aux autres patients ainsi que le risque de diffusion épidémique (ARLIN, 2012).

- Chambre individuelle en cas de BMR

La chambre individuelle est recommandée pour un patient porteur d'une bactérie ciblée. Par contre, dans le cas où plusieurs patients sont porteurs d'une même BMR, ils peuvent être regroupés dans une même chambre (DALI, 2015).

- Signalisation des BMR

La signalisation débute au laboratoire de bactériologie (identification par un logo spécifique sur l'antibiogramme de la souche). Ainsi, le même logo est apposé sur le dossier clinique du patient et la porte de sa chambre. De plus, le service d'aval est prévenu avant le transfert du patient vers une autre structure de soins (DALI, 2015).

I.4.2.3. Le nettoyage et la désinfection au niveau des hôpitaux

La désinfection ou la stérilisation du matériel propre permet d'éliminer les organismes pathogènes présents et d'éviter leur transmission par ce matériel à d'autres malades, aux membres du personnel ou à l'environnement.

❖ Pré-désinfection

La pré-désinfection est une opération qui consiste à immerger les instruments dans une solution détergente et désinfectante (bactéricide selon les normes NF EN 1040 (NFT 72152)) aussitôt après leur utilisation.

❖ Le nettoyage

Il consiste à éliminer les salissures notamment les matières organiques comme le pus, le sang et les sécrétions et permet donc de réduire simultanément le nombre de micro-organismes présents.

De plus, le nettoyage conjugue l'action physico-chimique du produit (détergent), l'action thermique et l'action mécanique du brossage (Ecouvillonnage) et du rinçage (**Comité éditorial pédagogique de l'UVMaF, 2011**).

❖ Le séchage

Le séchage doit être soigneux si le matériel ne doit pas être immédiatement réutilisé. De plus, il doit être réalisé avant stérilisation, ou après désinfection par immersion, afin de limiter la prolifération microbienne durant le stockage et les risques de rouille (**Comité éditorial pédagogique de l'UVMaF, 2011**).

❖ Stérilisation

La stérilisation est une opération permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes portés par des milieux inertes contaminés. Ainsi, le résultat de cette opération a pour objectif le degré 0 en fin d'opération et permet de conserver cet état pour une période de temps précisée (**Guide Technique d'Hygiène Hospitalière, 2004**).

❖ Désinfection

Elle consiste à réduire le nombre des micro-organismes présents au moment de l'opération en fonction des objectifs fixés.

Ainsi, il existe plusieurs types de désinfection :

-Désinfection chimique : par immersion dans une solution désinfectante, à l'aide d'un pulvérisateur, ou à l'aide d'appareils spécifiques pour la désinfection de contenant à déchets humains (bassins), d'endoscopes ou d'instrumentation.

-Désinfection thermique : l'eau chaude détruit aisément les populations et micro-organismes à l'état végétatif. Cependant, elle est incapable de détruire les formes sporulées et les agents transmissibles non conventionnels. De plus, la température doit être supérieure à 80°C pour être efficace dans des temps raisonnables.

-Désinfection chimico-thermique : utilise l'activité accrue de nombreux désinfectants à haute température. Elle est réalisée à l'aide d'appareils spécifiques : désinfection des bassins, d'endoscopes. Ces appareils réalisent, en règle générale, l'étape de nettoyage préalable à la désinfection. Une normalisation est là aussi en préparation (**Guide Technique d'Hygiène Hospitalière, 2004**).

❖ Rinçage final

Il permet :

- D'éliminer tout résidu de produit
- D'éviter la décontamination du matériel désinfecté (**Guide Technique d'Hygiène Hospitalière, 2004**).

Chapitre II : Les Méthodes d'analyse

Les prélèvements et les analyses microbiologiques effectuées en milieu hospitalier peuvent avoir des objectifs multiples tels que, des enquêtes épidémiologiques, la validation d'un protocole de nettoyage et de désinfection, ou le contrôle de l'efficacité du bio nettoyage et de la désinfection.

De plus, ces prélèvements et analyses doivent être réalisés pour protéger les patients vis à vis du risque de transmission des agents infectieux associée aux soins de santé (**Le Guyader, 1999**).

Cette étude il consiste en une analyse de données basée sur plusieurs travaux internationaux et a pour objectif de synthétiser des résultats à partir de 15 études de différents pays afin de déterminer les bactéries multi-résistantes les plus fréquentes en milieux hospitaliers, les antibiotiques auxquels elles sont le plus souvent résistantes et les surfaces fréquemment contaminées.

II.1. Méthodologie de recherche

II.1.1. Types de prélèvements

Les prélèvements peuvent concerner les surfaces du matériel médical telles que les respirateurs, les couveuses, les surfaces des locaux comme les lavabos, les surfaces fréquemment manipulées par le personnel soignant et les visiteurs telles que les poignées de portes, les robinets et les surfaces d'équipements de l'environnement immédiat des patients telles que les lits et les placards (**METTE *et al*, 2010**).

II.1.2. Techniques de prélèvement des surfaces d'environnement hospitalier

Les trois principales techniques de prélèvements utilisées sont :

- Prélèvements directs sur un milieu de culture (empreinte gélosée) (**BOULESTREAU *et al*, 2016**).
- Prélèvement sur un support (écouvillon) mis secondairement en culture.
- Prélèvement par essuyage (**METROPOL, 2019**).

II.1.2.1. Méthode par empreinte gélosée

Elle consiste à récupérer les micro-organismes détachables et cultivables en appliquant directement un milieu gélosé sur la surface à prélever de façon standardisée (temps de contact et pression exercée sur la boîte).

De plus, les conditions de transport des échantillons doivent assurer la survie des micro-organismes collectés et doivent être gardés au maximum 24 heures à une température ambiante et ne pas être réfrigérés.

Par ailleurs, les échantillons doivent être conditionnés afin d'éviter tout risque de contamination externe. Ainsi, les boîtes prélevées dans une même zone seront regroupées et identifiées par date, heure et le lieu de prélèvements (BOULESTREAU *et al*, 2016).

II.1.2.2. Méthode par écouvillonnage

Les micro-organismes détachables et cultivables sont récupérés en écouvillonnant la surface à prélever. Ainsi, la surface est frottée avec un écouvillon préalablement humidifié à l'aide d'un diluant-neutralisant ou d'un milieu de rinçage stérile (eau distillée stérile, sérum physiologique, bouillon nutritif plus neutralisant ou thioglycolate pour la recherche de Clostridium) (Norme NF EN ISO 14698-1 (2004)).

D'autre part, la Norme ISO 18593 (2004) suggère une surface minimale à couvrir entre 20 et 100 cm², calibrée avec un gabarit pour standardiser la technique et obtenir une technique semi-quantitative. En effet, cette étape améliore le relargage des bactéries du support par des stries éventuellement délimitées par le gabarit, préalablement stérilisé ou désinfecté, en faisant tourner légèrement l'écouvillon, il est préconisé un angle de 45° avec une pression constante et un balayage de la surface suivant une technique bien définie (figure 6).

Après prélèvement de la surface à analyser, l'écouvillon est réintroduit immédiatement dans le bouillon nutritif, et est ensuite acheminé au laboratoire puis incubé à 37°C pendant 24h à 48h (MADI *et al*, 2019 ;BOULESTREAU *et al*, 2016).

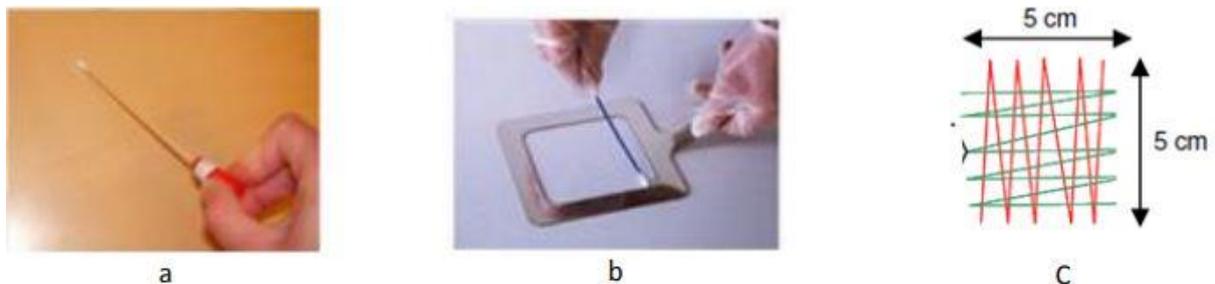


Figure 6: Représentation schématique d'un prélèvement de surface par écouvillonnage (a : direct, b : avec gabarit, c : technique de prélèvement) (BOULESTREAU *et al*, 2016).

II.1.2.3. Prélèvement par essuyage

Le prélèvement par essuyage est privilégié pour détecter tous les composés organiques ou inorganiques déposés sur des surfaces lisses ou peu rugueuses.

Deux des principaux paramètres ayant une influence sur les rendements de récupération sont la nature de la lingette et la nature du solvant d'imprégnation de ces dernières, En effet, ceux-ci doivent faire l'objet d'une optimisation lors de la mise au point de la méthode.

❖ Sélection du support de collecte

Le choix du support de collecte, généralement appelé lingette de prélèvement, est essentiellement conditionné par la nature de la surface. En effet, tout type de support de collecte jugé adapté au prélèvement peut être utilisé. Parmi ces supports, les lingettes commerciales pré-imprégnées ou non, les tampons de coton, la compresse de coton, le filtre papier, ou tout autre matériel initialement stérile du composé prélevé.

Par contre, dans le cas de surfaces légèrement à moyennement rugueuses, l'utilisation de supports fragiles tels que des filtres papier, ou des tampons de coton sont à proscrire. En effet, le caractère abrasif de la surface peut avoir tendance à endommager voire à émietter ou déchiqueter le support, ce qui a pour conséquence de réduire le taux de récupération. Dans ces cas de figure, des supports plus résistants tels que des compresses de coton tissées ou des lingettes commerciales sont à privilégier (METROPOL, 2016).

❖ Sélection du solvant ou de la solution d'imprégnation du support de collecte

D'une manière générale, l'imprégnation de la lingette de prélèvement par un liquide approprié augmente le taux de récupération, par simple effet d'adhérence ou de solubilisation (figure 7) (METROPOL, 2019).

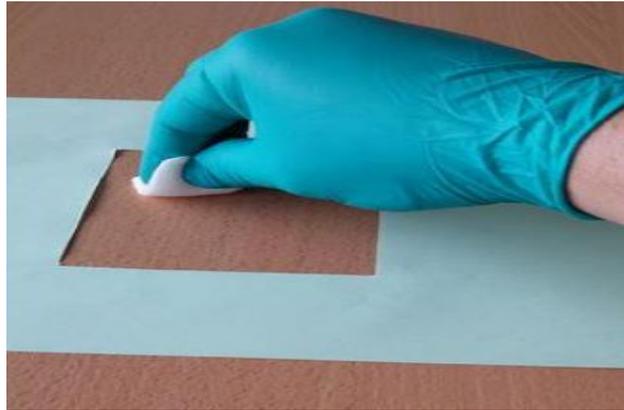


Figure 7 : Techniques de prélèvement surfacique par essuyage (METROPOL, 2019).

II.1.3. Ensemencement des prélèvements

L'objectif est d'obtenir des bactéries sous forme de colonies isolées qui vont être identifiées grâce à leurs caractéristiques culturelles, métaboliques, pathogéniques et antigéniques.

Les prélèvements normalement stériles sont en général,ensemencés sur des milieux solides non-sélectifs (gélose sang, gélose chocolat.) en atmosphère micro-aérophile.

Ainsi, l'ensemencement se fait en déposant des prélèvements dans un milieu de culture pour cultiver des bactéries. Une anse bactériologique est généralement utilisée. Cependant, elle peut être remplacée selon les besoins par une pipette Pasteur (ASSIS *et al*,2019).

D'autre part, l'incubation consiste à maintenir les milieux de culture ensemencés dans des conditions optimales de température et de pression d'oxygène.

En général, les cultures se développent en 18-24h après incubation, mais cela dépend des espèces, car certaines ont besoin de plusieurs semaines.

De plus, la température optimale est de 37°C, mais certaines bactéries se développent à 28°C, comme les bactéries du genre *Leptospira* (ASSIS *et al*, 2019).

II.1.4. Les méthodes d'identification

Après l'isolement des bactéries en cultures pures, l'étape suivante du diagnostic bactériologique est l'identification, effectuée seulement sur de jeunes cultures.

II.1.4.1. Identification macroscopique

L'identification des germes est basée sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement et d'enrichissement. Cette

observation servira de moyen d'orientation pour une identification plus approfondie (**BOUNAB *et al*, 2011**).

II.1.4.2. Identification microscopique

L'examen microscopique permet de distinguer différents types morphologiques des bactéries (forme sphérique, forme cylindrique, en bâtonnet, forme hélicoïdale ou spiralée, forme ramifiée).

❖ Examen à l'état frais

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité des bactéries et d'en déceler la forme, bien que ce renseignement soit plus accessible sur des frottis colorés. Si la bactérie est sporulée, l'état frais permet également de mettre ce phénomène en évidence. Pour observer la mobilité, on doit prendre garde à ne pas détruire les flagelles bactériens lors du prélèvement et de la préparation de la lame (**HUYNEN *et al*, 2010**).

❖ Examen après coloration

- Coloration simple: Le frottis est traité par un seul colorant basique (bleu deméthylène).
- Coloration de Gram: Les bactéries non décolorées par l'alcool sont dites à Gram positif ; elles apparaissent en violet tandis que les bactéries à Gram négatif, décolorées par l'alcool et recolorées par le colorant de contraste, apparaissent en rose (**HUYNEN *et al*, 2010**).

II.1.4.3. Les méthodes d'identification basées sur les tests biochimiques et les tests de pathogénicité

- La sécrétion d'enzymes (coagulase, catalase, oxydase, lectinase) peut être détectée par des tests simples.
- La capacité de métaboliser les sucres, par mécanisme oxydatif ou fermentatif est l'une des possibilités les plus utilisées pour identifier les bactéries. Ainsi, la différence entre les bactéries fermentatives et non fermentatives est importante dans l'identification des bactéries à Gram négatif (entérobactéries qui fermentent le glucose, et les bactéries dites « non-fermentatives » et qui ne le ferment pas).
- La production d'hydrogène sulfuré qui, en présence de certains métaux lourds dans les milieux, donne une couleur noire (*Salmonella, Proteus*) (ASSIS *et al*, 2019).

❖ Recherche de l'enzyme respiratoire

➤ Test de catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) formé comme sous-produit de processus métaboliques. Elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui se dégage selon la réaction suivante : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$ (MEZIANI, 2012).

➤ Test d'oxydase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram (-).

Le test de l'oxydase met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde le cytochrome « C » réduit. Ce test met en évidence la présence de cytochrome « C » dans les chaînes respiratoires grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que le cytochrome (Bensouilah *et al*, 2012).

➤ Nitrate réductase (NR)

Certaines bactéries peuvent utiliser comme accepteur final d'électrons des composés minéraux riches en oxygène. C'est le cas en particulier des nitrates qui sont alors réduits en nitrites. La

réduction peut aller au-delà du stade nitrites et conduire à la formation d'azote, gazeux **(Bensouilah et al, 2012)**.

La recherche d'une nitrate-réductase se fait par la mise en évidence des nitrites formés. Ainsi, les nitrites en milieu acétique ou sulfurique donnent une coloration rose ou rouge en présence d'acide para-sulfanilique et d'alpha-naphtylamine **(Bensouilah et al, 2012)**.

Toutefois, comme certaines bactéries réduisent les nitrates au-delà du stade nitrites, toute réaction apparaissant négative doit être contrôlée pour constater la présence ou la disparition des nitrates contenus à l'origine dans le milieu. Dans ce but, la poudre de zinc est ajoutée au milieu. Le zinc est un agent réducteur capable de réduire en quelques minutes les nitrates en nitrites **(Bensouilah et al, 2012)**.

Si la réaction est véritablement négative, les nitrates toujours présents dans le milieu sont réduits en nitrites sous l'action du zinc et une coloration rose ou rouge apparaît. Si la réaction est faussement négative, cela signifie que les nitrates ont été réduits par les bactéries en azote gazeux **(Bensouilah et al, 2012)**.

Alors, le milieu ne contient plus de nitrates et lorsque la poudre de zinc est ajoutée, la teinte du milieu n'est pas modifiée **(Bensouilah et al, 2012)**.

❖ **Les galeries biochimiques API (*Appareils et Procédés d'Identification*)**, ou également appelées galeries de tests biochimiques miniaturisés. Elles se présentent sous la forme d'une série de petits tubes, nommés tubules, correspondant chacun à un test biochimique spécifique. Ainsi, chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule pouvant être remplie ou non de liquide, afin de placer le tube dans des conditions particulières. Chaque tube contient un substrat défini (ONPG, ADH, GEL) et avec lequel les micro-organismes réagissent différemment **(ANONYME, 2016)**.

Après l'inoculation manuelle, à partir de cultures bactériennes et par l'intermédiaire de substances spécifiques et un indicateur de pH, les galeries sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

L'interprétation des résultats est effectuée selon les variations de couleurs notées sous forme de codes numériques, se trouvant dans un tableau fournit par le producteur et qui permet l'identification des bactéries **(ASSISet al, 2019)**.

II.1.4.4. Les méthodes d'identifications automatisées

Des analyseurs automatisés et informatisés qui utilisent des cartes de réactions miniaturisées, sont adoptés. Ainsi, la lecture automatique est effectuée à partir d'une banque de données qui permet l'identification correcte des bactéries (analyseur Vitek, Microscan ou spectromètre de masse MALDI-TOF).

❖ Les appareils Vitek-2® ou BDPhoenix®

Il s'agit de systèmes automatiques d'identification bactérienne, équipés d'étuves intégrées et permettant des incubations raccourcies (2 à 6 h) par rapport aux galeries traditionnelles. Ces systèmes comparent le profil obtenu de la souche inconnue avec ceux de leur banque de données. D'autre part, certains des automates commercialisés réalisent en le même temps l'antibiogramme (figure 8) (SUAREZ, 2013).



Figure 8 : Automate d'identification et d'antibiogramme Vitek 2 (SUAREZ, 2013).

❖ Spectromètre de masse MALDI-TOF

La technologie MALDI-TOF MS en microbiologie peut identifier les microorganismes jusqu'au niveau de l'espèce.

Il s'agit d'un spectromètre de masse qui est composé de 3 éléments dont une source d'ions (MALDI), une séparation des molécules (TOF) et la détection.

Ainsi, le principe se base sur l'ionisation des protéines bactériennes par un rayon laser et la création de pics caractéristiques (spectre). A partir d'une base de données de spectres, le logiciel associé recherche la correspondance à l'espèce de la bactérie selon un indice de fiabilité entre les deux spectres. Par ailleurs, le MALDI-TOF MS ne donne toute fois pas d'information sur le sérotype ni sur la pathogénicité de l'espèce (Figure 9) (PAVLOVIC *et al*, 2013).

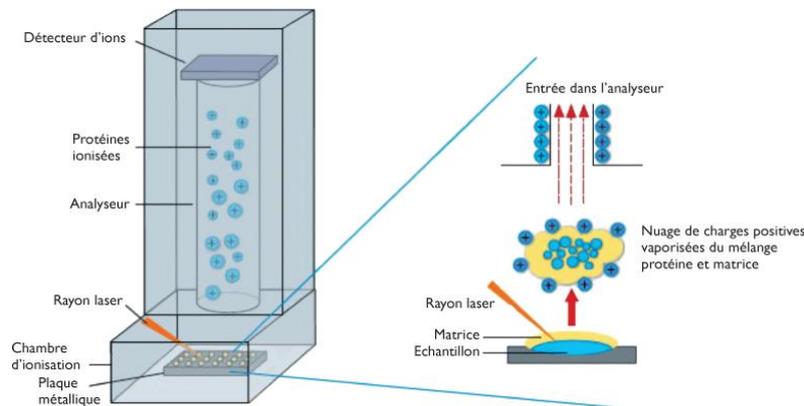


Figure 9 : Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse de type MALDI-TOF (Marie *et al*, 2013).

II.1.4.5. Les méthodes d'identification basées sur les tests moléculaires

L'identification idéale serait celle se basant sur la structure de L'ADN bactérien, avec les tests de biologie moléculaire (PCR),

Par ailleurs, il est parfois nécessaire de démontrer la présence des facteurs de pathogénicité des bactéries identifiées, pour confirmer le diagnostic.

En effet, les tests biochimiques ne donnent pas toujours une identification satisfaisante, le diagnostic étant complété par réaction immunologique antigène-anticorps (par agglutination, immunofluorescence, RIA, ELISA.)

Ainsi, une identification par PCR se déroule en 3 parties.

La première étape consiste à synthétiser des fragments d'ADN ayant des séquences identiques à celles qui flanquent la séquence recherchée (la partie spécifique). Ceci peut être réalisé à l'aide d'un synthétiseur automatique et les fragments obtenus, appelés « primers », servent d'amorce à la synthèse d'ADN. Ils ont généralement une longueur d'environ 20 nucléotides.

La seconde étape est la réaction PCR proprement dites. Elle consiste en trois étapes, répétées de nombreuses fois, afin d'obtenir environ 1 million de copies du fragment spécifique dont :

- La dénaturation de l'ADN bactérien par la chaleur. Les deux brins d'ADN se séparent
- L'hybridation des brins d'ADN avec les primers.
- L'élongation des nouveaux brins d'ADN à l'aide de nucléotides triphosphate et d'une ADN polymérase non sensible à la chaleur (Taq polymérase, enzyme extrait d'une archéobactérie vivant dans les sources chaudes : *Thermophilus aquaticus*).

Ce cycle, habituellement réalisé dans un appareil spécial, le thermocycleur est répété généralement une trentaine de fois.

La dernière étape est la révélation. Dans la plupart des cas, on utilise la propriété du bromure d'éthydiu qui se lie de façon permanente à l'ADN et qui est fluorescent sous les UV. En outre, étant donné que la séquence, donc la taille, du fragment spécifique est connue, il suffit de vérifier que l'on a une bande à la taille voulue pour conclure (HUYNEN *et al*, 2010).

II.1.5. L'antibiogramme

L'antibiogramme correspond à l'étude de l'activité bactériostatique de plusieurs antibiotiques en même temps et permet aussi à la catégorisation des souches sensibles, intermédiaires, ou résistantes. En effet, ceci permet aux cliniciens de connaître les molécules efficaces et de sélectionner les mieux tolérées, les moins pourvoyeuses de résistance et si possible les moins chères pour le traitement de l'infection (BOURGOIN, 2016).

Ainsi, deux méthodes sont utilisées :

II.1.5.1. La méthode des dilutions

Elle est souvent effectuée sur milieu de culture liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes à essai contenant un volume supérieur à 1,0 ml (habituellement 2 ml) (macro-dilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration de 96 puits (micro-dilution).

D'autre part, la méthode par dilution peut aussi être réalisée en milieu solide. Ainsi, la substance d'essai est incorporée à des concentrations connues dans la gélose et une fois définies, des bactéries sont appliquées sur sa surface. De cette façon, un grand nombre de bactéries peuvent être criblées dans une seule opération de dosage. Les boîtes sont incubées pendant 24 h ou plus et la croissance des bactéries sur le mélange extrait / agar, est marquée soit présente ou absente. Les points finaux des CMI sont enregistrés comme la plus faible concentration d'agent antimicrobien qui inhibe complètement la croissance dans des conditions d'incubation appropriées (BOUTCHICHE, 2017).

II.1.5.2. La méthode diffusimétrique

Cette technique consiste à ensemencer une gélose MH avec la souche étudiée, puis à déposer des disques de papier buvard imprégnés des antibiotiques à tester. Les antibiotiques diffusent de manière radiale et en profondeur à partir de ces disques, induisant un gradient décroissant de concentrations sur la gélose. Il en résulte une zone d'inhibition circulaire de la croissance bactérienne dont le diamètre est corrélé à la CMI (**BOURGOIN, 2016**).

Après 18 heures d'incubation, la sensibilité des germes en fonction du diamètre de la zone d'inhibition entourant le micro-comprimé d'antibiotique est appréciée. Ainsi, la lecture s'effectue en mesurant la zone d'inhibition qui est ensuite comparée à des normes (**ASSIS et al, 2019**).

❖ Le test E

Il s'agit d'une variante de l'antibiogramme sur milieu solide, qui permet d'établir précisément la CMI.

Ainsi, sur la surface d'un milieu de culture solide, gélifié et ensemencé de la même manière que pour la technique diffusimétrique, une bandelette de papier filtre imprégnée d'antibiotique avec une concentration croissante est appliquée. L'une des extrémités de la bandelette correspond à la concentration minimale et l'autre à la concentration maximale. L'interprétation de la zone d'inhibition permet d'établir la CMI (Figure 10) (**Joly, 2006**).

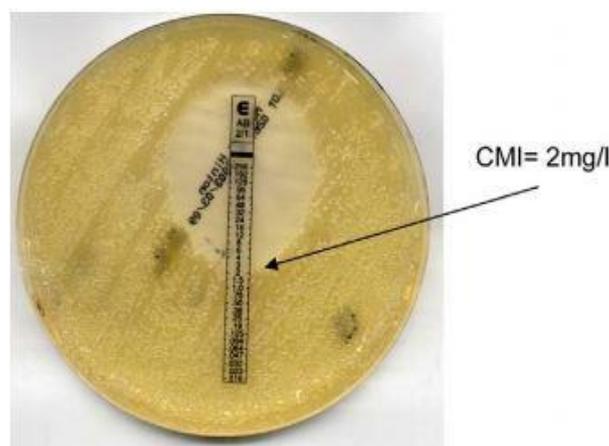


Figure 10 : Détermination de la CMI par méthode E-TEST (**Joly, 2006**)

Chapitre III : Analyse des données & Discussion

III.1.Objectif

Les surfaces de l'environnement hospitalier sont régulièrement colonisées par des bactéries multi-résistantes. De ce fait, la surveillance microbiologique de ces surfaces doit faire partie intégrante de la prévention des infections nosocomiales.

L'objectif de cette étude est de déterminer les différents sites de contamination et la résistance aux antibiotiques, des bactéries isolées dans l'environnement hospitalier à partir de plusieurs études.

III.2. Méthodologie de recherche et critères de sélection

Une recherche exhaustive a été effectuée à l'aide de Web of Science, PubMed, Google Scholar et Google. En outre, la recherche a été limitée à des articles originaux publiés sur la contamination des surfaces d'un environnement de santé par des bactéries multi-résistantes (MDR).

Les données extraites des études éligibles, comprennent le nom des auteurs, l'année de publication, le pays où l'étude a été menée, la nature des surfaces prélevées, les bactéries résistantes et les antibiotiques auxquels elles sont résistantes (tableau 4).

Ainsi, 15 articles de différents pays dont la Côte d'Ivoire, l'Uganda, le Maroc, l'Éthiopie, le Togo, le Brésil, la Slovénie, l'Italie, l'Inde, et l'Égypte ont été inclus dans cette analyse de données.

III.3. Analyse des données

Tableau 4 : Synthèse des résultats

Nom des auteurs	Année de la publication	Pays	Nature des surfaces prélevées	Nombre d'échantillons	Espèces bactériennes résistantes aux antibiotiques	Nom des antibiotiques auxquels les bactéries isolées sont résistantes.
Mette <i>et al</i>	2010	Côte d'Ivoire	-Les surfaces du matériel médical telles que les respirateurs, les couveuses, -Les surfaces des locaux telles que les lavabos -Les surfaces fréquemment manipulées par le personnel soignant et les visiteurs telles que les poignées de porte, les robinets, -Les surfaces d'équipements de l'environnement immédiat des patients telles que les lits et les placards.	431	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=32) - <i>Staphylococcus aureus</i> (n=30) - <i>Enterobacter cloacae</i> (n=8) - <i>Enterobacter Aerogenes</i> (n=4) - <i>Staphylococcus à coagulase négative</i> (n=77) - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=15) - <i>Acinetobacter spp.</i> (n =85) - <i>Flavobacterium spp.</i> (n=7)	- Amoxicilline + Acide Clavulinique (n=14) - Cefépime (n=7) - Gentamycine (n=47) - Ciprofloxacine (n=50) - Méticilline (n=15) - Ticarcilline (n=19) - Ceftazidine (n=20)
Baka <i>et al</i>	2014	Egypte	Sol, lit, couvre-lit, plancher de toilette, paroi de	60	- <i>Bacillus subtilis</i> (N.D) - <i>Enterobacter aerogenes</i> (N.D) - <i>Klebsiella pneumoniae</i> (N.D)	-Amoxicilline / acide Clavulanique (n=12) -Céfotaxime (n=9)

			vêtements du personnel hospitalier (blouses de protection et écran facial)			-Ceftriaxone (n=8) -Nitrofurantoïne (n=11) -Rifampicine (n=2)
Vasconcelos <i>et al</i>	2015	Brésil	-Equipements (rails latéraux droit et gauche et boutons de réglage de la hauteur des lits, infusion, boutons de pompe, interrupteurs d'éclairage individuels et cardiaque, étagères de moniteur)	56	- <i>Acinetobacter sp.</i> (n=16) - <i>Staphylococcus aureus</i> (n=11) - <i>Staphylocoques à coagulase négative</i> (n=7) - <i>Staphylococcus Saprophyticus</i> (n=7) - <i>Pseudomonas sp.</i> (n=10)	- Imipénème (n=12) - Lévofoxacine (n=12) - Pipéracilline (n=13) associé au tazobactam - Ticarcilline (n=6) - Amikacine (n=5) - Ciprofloxacine (n=12) - Tétracycline (n=6) - Cefazidime (n=4) - Gentamicine (n=4) - Erythromycine (n=18) - Pénicilline (n=11) - Clindamycine (n=14) - Céfoxitine (n=4) - l'oxacilline (n=10)
Addis <i>et al</i>	2017	Éthiopie	Tous les équipements médicaux non critiques et les surfaces inanimées qui ont été fréquemment en contact avec les patients et / ou des prestataires de soins de santé	130	- <i>Staphylococcus a coagulase négative</i> (n=60) - <i>Staphylococcus aureus</i> (n=46) - <i>Citrobacter fraudii</i> (n=15) - <i>Klebsiella. Pneumoniae</i> (n=11) - <i>E. coli</i> (n=11) - <i>Salmonella</i> (n=2)	-Pénicilline G (n=69) -Erythromycine (n=53) -Amoxicilline-Acide Clavulanique (n=104) -Ampicilline (n=46) -Céfoxitine (n=34) -Méticilline (n=34) - Ceftriaxone (n=41) - Céfoxitine (n=41) -Acide nalidixique (n=41)
KarmenGo dičTorkar	2017	Slovénie	L'équipement et fournitures dans les	102	- <i>Serratia marcescens</i> (n=24) - <i>Enterobacter aerogenes</i> (n=10)	-Acide nalidixique (n=44)

et SanjaIvić			chambres des patients ainsi que dans d'autres cliniques		- <i>Yersinia enterocolitica</i> (n=7) - <i>E. coli</i> (n=3) - <i>S. aureus</i> (n=19)	- Triméthoprime (n=44) - Pénicilline (n=40) - Oxacilline (n=3) - Amikacine (n=5) - Erythromycine (n=6) - Ciprofloxacine (n=4) - Clindamycine (n=6)
Dossimet <i>al</i>	2017	Togo	-Tous les prélèvements sur le matériel et les appareillages (tables opératoires, tables à instruments chirurgicaux, scialytiques des lavabos) -Les mains des chirurgiens	54	- <i>Staphylococcus spp.</i> (n=25) - <i>E. coli</i> (n=2) - <i>Pseudomonas spp.</i> (n=6) - <i>Acinetobacter spp.</i> (n=1) - <i>SGN</i> (n=16) - <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=2) - <i>Enterobacter spp.</i> (n=2)	- Pénicilline (n=2) - Macrolides (n=1) - Erythromycine (n=2) - Lincomycine (n=1) - Profloxacine (n=1) - Chloramphénicol (n=2) - Tétracycline (n=1) - Mécicilline (n=1) - kanamycine (n=1) - Tobramycine (n=1) - Gentamycine (n=1) - Ciprofloxacine (n=4) - Ticarcilline+ Acide Clavulanique (n=1)
Teshale <i>et al</i>	2015	Éthiopie	-Stéthoscopes -Thermomètres -Surfaces hospitalières qui ont probablement des contacts avec des patients, des visiteurs (les tables d'appoint / bancs, les sols, les tapis, les murs, poignées de porte,	88	- <i>SGN</i> (n=17) - <i>S. aureus</i> (n=19) - <i>Klebsiella</i> (n=13) - <i>Proteus</i> (n=9) - <i>Serratia</i> (n=6) - <i>P. aeruginosa</i> (n=10) - <i>E. coli</i> (n=14)	- Mécicilline (n=24) - Ampicilline (n=24) - Amoxicilline (n=40) - Ceftriaxone (n=41) - Ciprofloxacine (n=8) - Erythromycine (n=20) - Cefoxitine (n=20) - Gentamicine (n=40) - Penicilline (n=27)

			planchers, surfaces de lit, poignées de fenêtre)			
Laktib <i>et al</i>	2018	Maroc	-Surface, matériel médical et mains des travailleurs de la santé	88	- <i>Acinetobacter baumannii</i> (n=27) - <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=21) - <i>E.coli</i> (n=8) - <i>Enterobacter cloacae</i> (n=4) - <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (n=3) - <i>Klebsiella oxytoca</i> (n=1)	-Ampicilline (n=32) -Amoxicilline-Acide Clavulanique (n=32) -Sulfaméthoxazole / triméthoprime (n=30) -Ceftazidime (n=33) -Ciproflxacine (n=17) - Ceftriaxone (n=7) - Tetracycline (n=10) -Piperacillin-Tazobactam (n=14) -Cefotaxim (n=33)
Ivan <i>et al</i>	2018	Uganda	-Matériel médical comprenant des ciseaux, des supports de perfusion et des lits de patients, -Plans de travail composés de tables, de robinets d'évier et d'interrupteurs d'éclairage	138	- <i>Staphylococcus aureus</i> (n= 46) - <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=7) - <i>Proteus vulgaris</i> (n=5) - <i>Enterobacter</i> (n=2) - <i>Serratia merscescans</i> (n=1)	- Pénicillin G (n=43) - Céfoxétine (n=24) - Erythromycine (n=24) - Chloramphénicol (n=10) -Clindamycine (n=8)
Chaoui <i>et al</i>	2019	Maroc	-Surfaces prédéfinies, telles que les tables d'opération, les lampes opératoires, les lits, les appareils médicaux, le sol, les	200	- <i>Enterobacter spp.</i> (n=19) - <i>Klebsiella spp.</i> (n=18) - <i>Serratia spp.</i> (n=10) - <i>Proteus spp.</i> (n=8) - <i>Citrobacter spp.</i> (n=5) - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=18) - <i>Staphylococcus aureus</i> (n=47)	- Ampicilline (n= 57) -Amoxicilline-clavulanique (n= 52) -Erythromycin (n=26) -Kanamycin (n=27) -Tetracycline (n=62) -Ciprofloxacine (n=69) -Ticarilline (n=49)

			murs et les éviers		- <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (n=1) - <i>E. coli</i> (n=2)	
Vincenza <i>et al</i>	2019	Italie	-Les mains des agents de santé et des surfaces proches du patient et celles touchées par les agents de santé (lit et tête de lit, évier, plancher, plateaux médicaux)	3760	- <i>S. aureus</i> (n=32) - SGN (n=284) - <i>Pseudomonas spp.</i> (n=52) - <i>Acinetobacter spp.</i> (n=44) - <i>Rhizobium spp.</i> (n=32)	-Ampicilline (n=248) -Gentamycine (n=20) -Vancomycine (n=2) - Ceftriaxone (n=20) - Céfoxitine (n=63) - Mécillinam (n=56) -Imipénem (n=61) -Ceftazidime (n=25)
Dayane <i>et al</i>	2019	Brésil	- Les surfaces et le matériel médical (boutons de porte, pompes à perfusion, matelas, lit)	208	- <i>S. aureus</i> (n=122) - entérobactéries (n=47) - <i>P. aeruginosa</i> (n=14) - <i>Micrococcus spp</i> (n=18) - SGN (n=4)	- Céphalosporines (n=9)
Sailo <i>et al</i>	2019	Inde	-Les téléphones mobiles des travailleurs de la santé (TS) et des non-TS en milieu hospitalier	100	- <i>Acinetobacter baumannii</i> (n=1) - <i>Staphylococcus hominis</i> (n=4) - <i>Enterobacter cloacae</i> (n=4) - <i>E. coli</i> (n= 3) - <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=2) - <i>Sphingomonas paucimobilis</i> (n=1)	-Colistine (n=5) -Céfuroxime (n=13) -Ceftriaxone (n=3) -Ampicilline (n=8)
Workneh <i>et al</i>	2019	l'Éthiopie	Stéthoscopes, blouses blanches ou téléphones portables - étaient collectés auprès des médecins et des étudiants stagiaires	422	- <i>S. aureus</i> (n=81) - <i>K. Pneumoniae</i> (n=27) - <i>E. coli</i> (n=8) - SGN (n=111) - <i>S. Pyogenes</i> (n=1) - <i>P. Aeruginosa</i> (n=1) - Citrobacter (n=2)	- Pénicilline (n=158) - Erythromycine (n=109) - Ampicilline (n=5) - Cotrimoxazole (n=3) -Chloramphenicol (n=47) - Norfloxacine (=85) - Ciprofloxacine (n=26) -Tétracycline (n=104)

						<ul style="list-style-type: none"> -Gentamicin (n=32) -Cefoxitin (n=46) -Clindamycin (n=22)
Ango <i>et al</i>	2020	Côte d'Ivoire	-Des dispositifs médicaux et surfaces	110	<ul style="list-style-type: none"> -<i>Staphylococcus aureus</i> (n=14) -<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=23) -<i>Enterobacter cloacae</i> (n=2) -<i>E.coli</i> (n=4) -<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=11) -<i>Acinetobacter</i> sp (n=3) -<i>Klebsiella oxytoca</i> (n=2) 	<ul style="list-style-type: none"> - Méricilline (n=10) - Aminosides (n= 30) - Macrolides (n=8) - Fluoroquinolones (n=8) - Péfloxacine (n=10) - Ciprofloxacine (n=23) -Pénicilline (n=3) -Céphalosporine-n=9) -Oxacilline (n=11) -Erythromycine (n=13) -Lincomycine (n=34) -Kanamycine (n=35) -Gentamycine (n=34) -Tétracycline (n=12) -Ampicilline (n=29) -Ticarcilline (n=37) -Amoxicilline+ Acide Clavulanique (n=24) -Céfuroxime (n=20) -Cefotaxime (n=19) -Ceftazidime (n=19)

n : nombre ; N.D : non déterminé.

III.3.1. Les souches bactériennes résistantes

Divers agents pathogènes bactérien sont été isolés comme indiqué dans le tableau 4.

Ainsi, une prédominance des bactéries à Gram-négatif (GNB) a été observée. Ces dernières sont réparties selon les 15 études comme suit: 93,33% (14/15) de *Klebsiella pneumoniae*, 73,33% (11/15) d'*E. coli*, 40% (6 /15) d'*Enterobacter cloaceae*, *Serratia merscescans*, 33,33% (5/15) d'*Enterobacter spp.* et *Citrobacter freundii*, 26,67% (4/15) de *Shigella*, *Proteus vulgaris*, et de *Salmonella*, 20% (3/15) de *Serratia liquefaciens*, *Yersinia enterocolitica*, *Pantoea*, et *Proteus rettgeri*.

Quant aux autres bacilles à Gram négatif non fermentant, ils sont constitués de, *Acinetobacter* avec un pourcentage de 26,67% (4/15), de *Pseudomonas aeruginosa* avec 60% (9/15) et de *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Pseudomonas luteola*, et *Sphingomonas paucimobilis* avec 6,66% (1/15). D'autre part, *Burkholderia cepacia*, *Aeromonas spp.*, *Chryseo bacterium meningosepticum* sont identifiées dans une seule étude(1/15 ; 6,66%), et *Stenotrophomonas maltophilia* dans deux études (2/15 ; 13,33%).

Par ailleurs, parmi les bactéries à Gram positif identifiées dans les différentes études, *Staphylococcus aureus* est présente avec un pourcentage de 86,66% (13/15), *Staphylococcus à coagulase négative (SGN)* avec 46,67% (7/15), *S. hominis* avec 13,33% (5/15), et *Bacillus subtilis* avec 13,33% (2/15) et deux souches de *Streptococcus* l'une appartenant au Lancefield groupe sérologique D et l'autre *Streptococcus viridans* avec 13,33% (2/15) (figure 11).

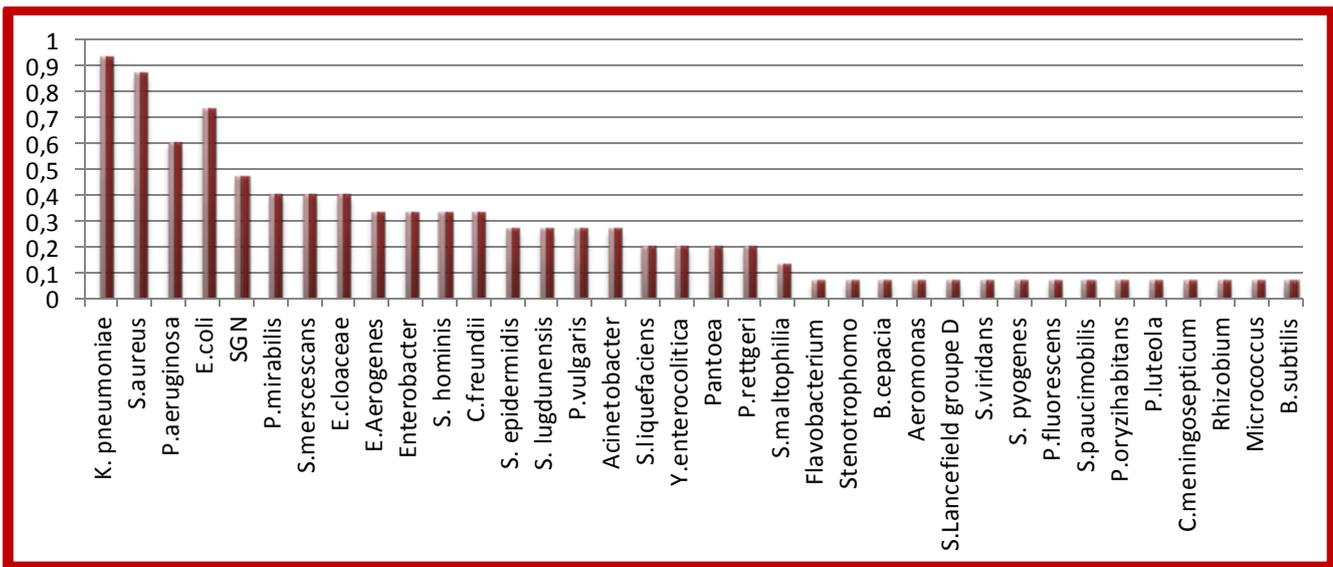


Figure 11 : Les espèces bactériennes résistantes aux antibiotiques selon les 15 études

III.3.2. La résistance des isolats aux antimicrobiens

Concernant la résistance des bactéries aux antibiotiques, 8/15 des études (53,33%) ont démontré des résistances élevées de plusieurs souches bactériennes à l'Erythromycine, suivie par l'Ampicilline (7/15 des études), la Ciprofloxacine (7/15 des études) et la Métilcilline (5/15 des études) avec des taux respectifs de (46,67% ; 46,67% et 33,33%).

Par ailleurs, dans 4/15 des études (26,66%) les souches bactériennes étaient résistantes à la Ceftazidim, la Ticarcilline, et la Céfoxétine et dans 3/15 (20%) résistantes à la Tétracycline et à la Gentamicine.

De plus, dans 2/15 des études (13,33%) les bactéries ont montré une résistance à l'Amoxicilline, l'Eftriaxone, le Chloramphénicol, l'Amoxicilline-Clavulanique, la Ceftazidine, la Cefotaxime, l'Imipénème, l'Amikacine et la Cindamycine et seulement dans 1/15 des études (6,66%) les bactéries se sont avérées résistantes à la Cefepime, aux Aminosides, aux Macrolides, à la Kanamycine, à la Lévofloxacine, à la Pipéracilline associée au Tazobactam, à l'Oxacilline, à la Lincomycine, à la Vancomycine, à la Fluoroquinolones, à la Colistine, au Sulfaméthoxazole / triméthoprime et à la Péfloxacin

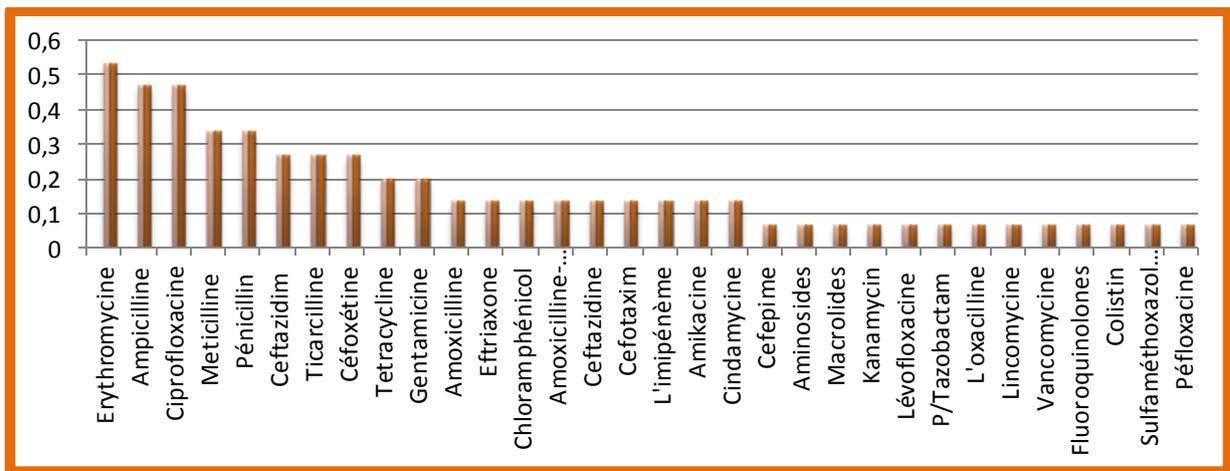


Figure 12 : Répartition de la résistance des bactéries isolées aux antimicrobiens selon les 15 études

D'autre part, la résistance aux antibiotiques de chaque bactérie isolée dans les différentes études est résumée dans le tableau 5.

Tableau 5 : La résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les 15 études

Espèces bactériennes	Antibiotiques auxquels les bactéries isolées sont résistantes.
<i>S. aureus</i>	Méticilline, Gentamycine, Ciprofloxacine, Pénicilline, Erythromycine, Acide amoxicilline-clavulanique, Ampicilline, Céfoxitine, L'oxacilline, Amikacine, Clindamycine, Chloramphenicol, Norfloxacine, Tétracycline, Gentamicin, Ceftriaxone, Mecilliname, Vancomycine, Imipeneme
<i>Klebsiella</i>	Amoxicilline + acide Clavulinique, Cefépime, Gentamycine, Ciprofloxacine, Norfloxacine, Ampicilline, Ceftriaxone, Chloramphenicol, Penicilline, Tétracycline, Gentamicine, Cefoxitine, Erythromycine, Mecilliname, Imipeneme, Aminositides, Péfloxacine, Ampicilline, Piperacilline, Ticarcilline, Amikacine
<i>Enterobacter</i>	Cefépime, Gentamycine, Ciprofloxacine, Aminositides, Amoxicilline / acide Clavulanique, Cefotaxime, Ceftriaxone, Ampicilline, Piperacilline, Ticarcilline, Cefazidime, Cefoxitine, Tétracycline, Chloramphénicol
<i>SCN</i>	Méticilline, Gentamycine, Ciprofloxacine, Pénicilline, Erythromycine, Acide amoxicilline-Clavulanique, Ampicilline, Céfoxitine, Oxacilline, Tétracycline, Norfloxacine, Chloramphenicol, Clindamycine, Lincomycine, Kanamycine, Amikacine, Tétracycline, Norfloxacine
<i>Acinetobacter</i>	Ticarcilline, Cefazidime, Gentamycine, Ciprofloxacine, Aminositides, Péfloxacine, Imipenem, Gentamicine, Norfloxacine
<i>Pseudomonas</i>	Ticarcilline, Cefazidime, Gentamycine, Ciprofloxacine, Imipeneme, Aminositides, Péfloxacine, Ticarcilline+ Acide Clavulanique, Lévofloxacine
<i>Flavobacterium</i>	Ticarcilline, ceftazidime
<i>Bacillus subtilis</i>	Amoxicilline / acide Clavulanique, Céfotaxime, Ceftriaxone, Nitrofurantoïne, Rifampicine.
<i>Enterobacteraerogenes</i>	l'amoxicilline / acide Clavulanique, Cefotaxime et Ceftriaxone, Nitrofurantoïne
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	l'amoxicilline / acide Clavulanique, Cefotaxime, Ceftriaxone, Nitrofurantoïne, Aminositides, Ciprofloxacine, Péfloxacine, Nitrofurantoïne
<i>E. coli</i>	Amoxicilline-acide Clavulanique, Ceftriaxone, Ampicilline, Céfotaxime, Acide Nalidixique, Ciprofloxacine, Norfloxacine, Ampicilline, Chloramphenicol, Penicilline, Tétracycline, Gentamicine, Cefoxitine, Erythromycine, Aminositides, Péfloxacine, Piperacilline, Cefazidime, Cefoxitine
<i>Enterobacteraerogenes</i>	Acide Nalidixique, Triméthoprime, Ampicilline, Amoxicilline, Ceftriaxone, Ciprofloxacine, Gentamicine
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Acide Nalidixique, Triméthoprime,
<i>Proteus</i>	Ampicilline, Amoxicilline, Ceftriaxone, Ciprofloxacine, Gentamicine, Cefoxitine, Mecilline, Imipeneme, Chloramphenicol, Tétracycline, Levofloxacine
<i>Serratia spp.</i>	Amoxicilline, Ceftriaxone, Ciprofloxacine, Erythromycine, Cefoxitine, Gentamicine, Penicilline, Ampicillin, Amoxicillin-acide

	Clavulanique, Ticarcilline, Cefoxitine, Levofloxacin, Piperacilline
<i>A. baumannii</i>	Piperacillin-Tazobactam, Cefotaxim, Ciproflxacin, Ampicilline, Amoxicilline-Acide Clavulanique, Sulfaméthoxazole / Triméthoprime, Cefazidime, Ciproflxacine, Ceftriaxone, Tetracycline
<i>S. maltophilia</i>	Ampicillin, Ceftriaxone, Cefotaxim, Gentamicin, Imipenem, Tetracyclin, Sulfaméthoxazole/Triméthoprim, Piperacillin-Tazobactam
<i>Citrobacter spp.</i>	Ampicilline, Amoxicilline-acide-Clavulanique, Piperacilline, Piperacilline + Tazobactam, Ticarcilline, Ceftriaxone, Cefazidime, Cefepime, Gentamicine, Chloramphénicol, Tetracycline, Ciproflxacine, Levofloxacin, Cefoxitine
<i>Bacillus subtilis</i>	Amoxicilline, / acide Clavulanique, Céfotaxime, Ceftriaxone, Rifampicine, Nitrofurantoïne
<i>S. maltophilia</i>	Cefotaxime, Cefazidime, Imipenem, Amoxicilline, / acide Clavulanique, Ampicilline, Ceftriaxone
<i>Serratia marcescens</i>	Ciproflxacine, Ceftriaxone, Gentamycine, Acide Nalidixique, Chloramphénicol
<i>Proteus vulgaris</i>	Ciproflxacine, Ceftriaxone, Gentamycine, Acide Nalidixique, Chloramphénicol
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Aminoside, Ciproflxacine, Péfloxacin, Cefotaxime, Ciproflxacine, Cefazidime, Amoxicilline, / acide Clavulanique, Ceftriaxone
<i>P. aeruginosa</i>	Piperacilline, Ticarcilline, Ceftriaxone, Cefazidime, Imipenem, Gentamicine, Ciproflxacine, Levofloxacin,

III.3.3. Répartition des bactéries isolées selon les surfaces prélevées

Concernant la répartition des bactéries résistantes aux antibiotiques isolées dans l'environnement hospitalier, 10/15 des études (66,67%) ont montré des contaminations bactériennes au niveau des équipements médicaux, 8/15 (53,33%) au niveau des lavabos et des robinets, 7/15 (46,67%) au niveau des surfaces et des sols, 5/15 (33,33%) au niveau des poignées de portes manipulées par le personnel soignant et les visiteurs, 4/15 (26,66%) au niveau des tables, 3/15 (20%) sur les blouses, 2/15 (13,33%) sur les stéthoscopes, les thermomètres, les mains, les téléphones, les murs, les interrupteurs d'éclairage et les placards et 1/15 (6,66%) sur les respirateurs, les couveuses, et les ciseaux (figure 10).

D'autre part, selon l'étude de Mette et al (2010), 54,6% des souches de *Staphylococcus* méticillorésistantes ont été retrouvées au niveau des lits et 27,3% au niveau des poignées de portes manipulées par le personnel soignant et les visiteurs. Par contre, 54,6% des souches d'entérobactéries ont été retrouvées au niveau des lavabos.

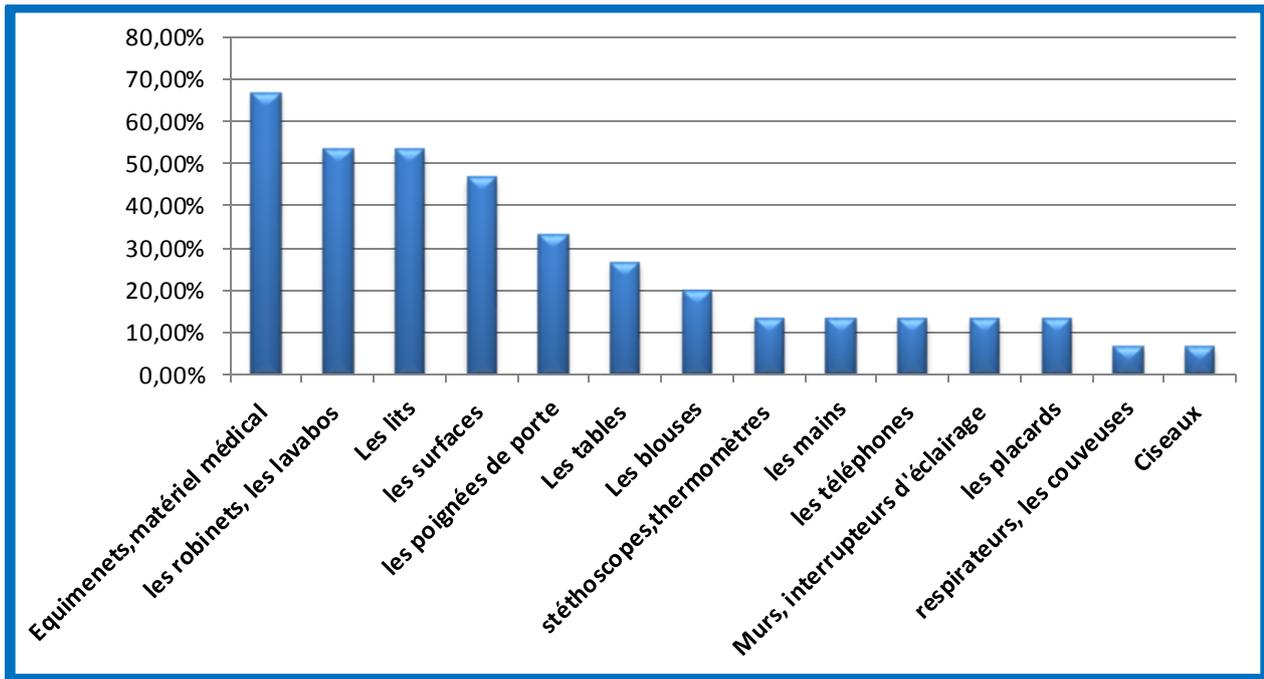


Figure 13: Répartition des différents sites contaminés par les bactéries multi-résistantes selon les 15 études

III.4. Discussion

Le rôle de l'environnement dans l'hébergement et la transmission des organismes MDR est devenu plus clair grâce à une série de publications liant la contamination environnementale aux risques accrus d'infections nosocomiales. De plus, l'incidence de la résistance aux antimicrobiens augmente et entraîne des morbidités et des mortalités plus élevées associées aux infections **(Ivan et al, 2018)**.

-Les souches bactériennes résistantes

Dans cette étude et d'après l'analyse des données des 15 articles, les germes les plus fréquemment isolés sont des bacilles à Gram négatif, la prédominance de *Klebsiella pneumoniae* a été mentionnée dans plusieurs études.

Selon de précédentes études ces bactéries ont souvent été isolées en milieu hospitalier.

En effet, d'après Decré et al (2000), l'espèce *K. pneumoniae* est plus fréquemment isolée à l'hôpital qu'en communauté. Ainsi, Ango et al (2020) ont rapporté un taux de 38,98% de *Klebsiella pneumoniae*, de 18,64% de *Pseudomonas aeruginosa* et de 6,77% d'*Escherichia coli* dans des échantillons prélevés à partir de dispositifs médicaux et de surfaces de service de réanimation du centre hospitalier et universitaire (CHU) de Treichville en Côte d'Ivoire.

Teshale (2018) a également enregistré une prédominance de 15,9% d'*Escherichia coli* suivie de 14,9% de *Klebsiellaspp*.

Cette proportion élevée serait due à la méthode de prélèvement, car la technique par écouvillonnage humide semble mieux détecter les bacilles à Gram négatif **(Méité, 2010)**.

Aussi, l'isolement de telles entérobactéries est fortement évocateur de contamination, de mauvaise hygiène du personnel et surtout des mauvaises pratiques de lavage des mains chez les agents de santé et les patients. De plus, la forte prévalence de ce microorganisme est attribuée à la présence de pili codés par le gène mrkD dans *Klebsiella pneumoniae* qui aide à l'adhérence de l'organisme aux tissus hôtes lors de l'invasion et la formation des biofilms **(Ivan et al, 2018)**.

Staphylococcus aureus était le Gram positif le plus dominant, isolé dans 13/15des études (86,66%). Cette espèce bactérienne est naturellement présente sur la muqueuse humaine sous forme de flore normale. En plus, les composants de surface tels que les acides teichoïques et certaines protéines de la paroi et de la membrane ont un rôle bien déterminé dans chaque étape de la formation d'un biofilm **(Ivan et al, 2018)**. D'autre part, ces communautés multicellulaires peuvent causer des infections nosocomiales particulièrement difficiles à

traiter, car les biofilms rendent les bactéries qui les composent encore plus résistantes aux antibiotiques (Yves, 2016).

-La résistance des isolats aux antimicrobiens

En ce qui concerne la résistance des souches isolées aux antibiotiques, l'augmentation de la résistance a été observée pour l'érythromycine (8/15 des études), l'Ampicilline (7/15), la Ciprofloxacine (7/15), la Mécicilline (5/15), avec des taux respectifs de 53,33% ; 46,67% ; 46,67% et 33,33%. Cela pourrait être attribué à la sur utilisation croissante et abusive des antibiotiques par la population générale mais aussi dû au traitement par antibiotiques non adapté aux résultats microbiologiques, à l'évolution clinique, à une posologie d'antibiotiques inférieure ou supérieure à la posologie appropriée pour un patient donné, à des antibiotiques à large spectre utilisés trop souvent, ou à des antibiotiques à spectre étroit utilisés de façon incorrecte (Fosseprez, 2013).

Par contre, la Cefepime, les Aminosides, les Macrolides, la Kanamycina, la Lévofloxacine, la pipéracilline associés au Tazobactam, l'oxacilline, la lincomycine, la Vancomycine, les Fluoroquinolones, la Colistine, la Sulfaméthoxazole / triméthoprim, la Péfloxacin étaient moins résistantes dans les données étudiées.

D'après VINCENT (2000), les entérobactéries (ESBL) dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'IN. En effet, les BLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN. Ainsi, la tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Aussi, les souches d'EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobactersp* sont résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème) et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones.

En outre, *Pseudomonas aeruginosa* résistantes aux β -lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. En effet, dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques et des mesures de contrôle de l'environnement.

De plus, *S.aureus* est l'une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Ainsi, le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de

lutte contre les BMR. Assurément, les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées dans les infections nosocomiales (IN), ils sont résistants à toutes les β -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones.

Par contre, d'après le tableau 5, les résistances sont massives et préoccupantes. Certaines souches sont multi-résistantes, d'autres sont même devenues toto-résistantes, c'est-à-dire résistantes à tous les antibiotiques disponibles. Ce dernier cas est heureusement encore rare mais le phénomène est en augmentation et place les médecins dans une impasse thérapeutique car ils ne disposent plus d'aucune solution pour lutter contre l'infection (**Inserm, 2018**).

Ainsi, les résultats de nos analyses de données sur les organismes MDR appellent à intervenir pour ralentir cette menace qui représente un réel danger pour la santé publique.

-Répartition des bactéries isolées selon les surfaces prélevées

Les équipements médicaux, les lavabos les robinets et les lits, étaient principalement les surfaces les plus souillées, suivies par la contamination des sols et des poignées de portes. Cette situation est due au fait que les surfaces et les équipements médicaux sont fréquemment manipulés par le personnel soignant. Elle serait également en rapport avec le manque d'hygiène et l'échec des méthodes de désinfection avec pour conséquence, la contamination d'autres surfaces par les agents pathogènes (**Ango et al, 2020 ; Addis et al, 2017**).

Toutefois, les bactéries du genre *Klebsiella* peuvent être transmises d'une personne à une autre et sont souvent présentes sur les mains du personnel hospitalier ce qui explique leur existence sur les passes de portes (**Meskine, 2016**).

D'autre part, cette distribution des bactéries multirésistantes souligne l'importance de la mise en place d'une veille microbiologique prenant en compte les surfaces dans les structures de soins visitées où la qualité de l'hygiène semble être défectueuse, pour but de prévenir les infections croisées et d'atteindre les niveaux de contamination les plus bas possible dans l'environnement des patients fragilisés et aussi de réduire les micro-organismes présents sur des objets, et des surfaces verticales et horizontales.

Conclusion

Klebsiella, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus* coagulase négative, sont les bactéries majoritairement retrouvées sur le matériel médical ainsi que dans l'environnement hospitalier. De plus, la présence de quelques résistances aux antibiotiques fait craindre une épidémie potentielle en cas d'inoculation à un patient.

En effet, la colonisation fréquente des sites manipulés par le personnel soignant et/ou les visiteurs constitue un risque infectieux réel pour les patients. Aussi, la forte présence de bactéries multi-résistantes d'origine humaine au niveau des surfaces de l'environnement hospitalier peut être le témoin d'une mauvaise hygiène dans les unités de soins.

Il en découle que la lutte contre les infections nosocomiales doit être une préoccupation perpétuelle et que la prévention et la surveillance régulière de ces infections doit être la principale stratégie de lutte.

Un changement de comportement au niveau de toutes les couches socio professionnelles dans la pratique des soins de nos structures sanitaires, ainsi que la mise en place d'un protocole de bonne pratique d'hygiène pour les différents gestes de soins médicaux et paramédicaux sont nécessaires. Effectivement, bien que les surfaces microbiologiquement contaminées puissent servir de réservoirs pour les microorganismes potentiellement pathogènes, le transfert de ces derniers à partir des surfaces de l'environnement aux patients implique, en grande partie le contact des mains avec ces surfaces. Donc, l'hygiène des mains est importante pour minimiser l'impact de ce transfert, le nettoyage et la désinfection des surfaces de l'environnement sont également indispensables pour la réduction de l'incidence des infections nosocomiales.

Références bibliographiques

1. **Addis *et al.*, 2017**
Bacterial contamination and antimicrobial susceptibility patterns of intensive care units medical equipment and inanimate surfaces at Ayder Comprehensive Specialized Hospital, Mekelle, Northern Ethiopia, 15p.
2. **Ango *et al.*, 2020**
Écologie Microbienne des Surfaces et Dispositifs Médicaux au Service de Réanimation du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Treichville, 21, 23-27p.
3. **Anonyme. 2**
<http://antibiotiques-tpe-by-eca.e-monsite.com/pages/conditions-dactions-1.html>, consulté le 08/04/2020.
4. **Anonyme. 3** (Microsoft Word - 2. Structure bact\351rienne.doc).
<http://microbia.free.fr/CoursABM/ABM2.%20Structure%20bact%E9rienne.pdf>, consulté le 13/03/2020.
5. **Anonyme. 4** Cours de Bactériologie Générale PHYSIOLOGIE – CROISSANCE.
<http://www.microbes-edu.org/etudiant/phisio-croissance.html>, consulté le 02/08/2020.
6. **Anonyme. 5, 2016**
<http://ephytia.inra.fr/fr/C/23587/Veg-Di-g-Galeries-API#:~:text=Principe%20%3A,%C3%A0%20un%20test%20biochimique%20sp%C3%A9cifique,consulté le 2/08/2020>.
7. **Anonyme. 6, 2012**
Coordination SSR «Rhône Réadaptation » dépistage des patients en SSR. Les mesures d'hygiène en SSR : des précautions « standard » aux précautions complémentaires, 3p.
8. **Assis *et al.*, 2019**
Manuel de microbiologie travaux pratiques- partie générale médecine générale, section française ; 35-52-53-60p.
9. **Baka *et al.*, 2014**
Isolation and characterization of some multi-antibiotic resistant bacterial pathogens associated with nosocomial infections, 3, 33-34.
10. **Bensouilah *et al.*, 2012**
Microbiologie des fientes de quelques espèces aviaires nicheuses dans la région de Guelma ». Mémoire de Master, Université de Guelma, 124p.
11. **Boudjehem., 2018**
Étude moléculaire de l'antibiorésistance des bactéries isolées des hôpitaux. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma 2018, 87p.
12. **Boulestreau *et al.*, 2016**
Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Guide de bonnes pratiques CCLIN Sud-Ouest, pdf, 125p.
13. **Bounab *et al.*, 2011**
Isolement et identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale chez les patients - nouveaux nés. Mémoire de fin étude pour l'obtention du diplôme de master biologie option santé eau et environnement. Université 08 Mai 1945 de Guelma, 88p.
14. **Bourgoin Gaetan., 2016**
Etude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de Escherichia coli isolées d'ECBU au CHU de Rouen ; apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Rouen; 1

15. Boutchiche., 2017

Etude comparative de quelques méthodes d'évaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits de plantes, Mémoire Présentée par M^{lle} Boutchiche Amina En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biologie Option : Microbiologie, UNIVERS ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN, 58p.

16. Cavallo *et al.*, 2002.

Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN, 2002.

17. Chaoui *et al.*, 2019.

Contamination of the Surfaces of a Health Care Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria, ID 3236526, 7 p.

18. Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène, 2014.

Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie – Structure © UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone, 11p.

19. Cours de microbiologie générale, 2017.

Université cheikh laarbi tebessi – TEBESSA faculté des sciences de la nature et de la vie département du tronc commun, 28p.

20. Dayane *et al.*, 2019

Epidemiology of bacterial contamination of inert hospital surfaces and equipment in critical and non-critical care units: a Brazilian multicenter study; Short title: Epidemiology of contamination of hospital surfaces, 4, 25p.

21. Dossim *et al.*, 2017

Ecologie bactérienne de l'environnement et du matériel lors des différentes étapes de stérilisation au bloc opératoire du CHU Sylvanus Olympio à Lomé au Togo, 5, 4-10.

22. El Abdani., 2016

Évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en anti thérapie, thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie .université Mohammed v-rabat faculté de médecine et de pharmacie –rabat ; 192p.

23. Fosseprez., 2013

Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance, faculté de pharmacie, Université Lorraine, pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie par Pauline. 134p.

24. Guide pratique des bactéries pathogènes. 2017

Société marocaine d'infectiologie pédiatrique de vaccinologie, 95p.

25. Hnich., 2017

La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire, thèse présentée et soutenue pour l'obtention du docteur en médecine, Faculté de médecine et de pharmacie, Royaume du Maroc 149p.

26. Huynen *et al.*, 2010

Travaux pratiques de microbiologie générale, Université de Liège, 62

27. Igor *et al.*, 2015

Resistance of bacteria isolated from equipment in an intensive care unit, 28(5):433-9p.

28. Inserm., 2018

La science pour la santé <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers/information/resistance-antibiotiques> consulté le 04/09/2020

29. Ivan *et al.*, 2018

Microbial contaminants isolated from items and work surfaces in the post- operative ward at Kawolo general hospital, Uganda, 6p.

Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, THÈSE Pour le DOCTORAT VÉTÉRINAIRE, école nationale vétérinaire d'Alfort, 2014, 132p.

30. Joly., 2006

Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie E-test method for guiding antibiotic therapy, 15 (2006) 237–240p.

31. Karmen *et al* 2017.

Surveillance of bacterial colonisation on contact surfaces in different medical wards, 68:116-126.

32. Laktib *et al.*, 2018

Identification and antibiotic resistance of nosocomial bacteria isolated from the hospital environment of two intensive care units, Laboratory of Microbial Biotechnology and Plants Protection, IbnZohr University, Faculty of Sciences, Agadir-Morocco, 15, 28-41p.

33. Leulmi., 2015

Les Proteus incriminés dans les infections communautaires et hospitalières: étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques Thèse Pour l'obtention du Diplôme de Doctorat 3ème cycle LMD En Microbiologie Option : Biotechnologie Microbienne, Génome et Environnement Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 232p.

34. Lozniewski., 2010

Résistance bactérienne aux antibiotiques, Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins, 4p.

35. Meriahet *al.*, 2017

L'incidence des bactéries multi-résistantes " BMR" en réanimation CHU Tlemcen : intérêt du portage digestif du 15 OCTOBRE 2016 AU 28 FEVRIER 2017. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie; UNIVERSITE ABOU BEKR BELK AÏD FACULTE DE MEDECINE TLEMCEN, 126p.

36. Meskine., 2016

Etude de la résistance et la multi-résistance à l'antibiotique de souches isolées du milieu hospitalier. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des frères Mentouri Constantine faculté des sciences de la nature et de la vie, 74p.

37. Metropol., 2019

Protocole de mise au point des méthodes de prélèvement surfacique et d'analyse des substances chimiques sur les surfaces de travail Version 2– Décembre 2019 © INRS, 30p.

38. Metteet *al.*, 2010

Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau tertiaire: exemple du CHU de YOPOUGON, ABIDJAN, COTE D'IVOIRE, 2010, 11, 73-81.

39. Meziane., 2012

Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas, Mémoire Présenté pour l'Obtention du Diplôme de Magistère Spécialité : BIOCHIMIE, Université Mentouri Constantine, 96p.

40. Pavlovic *et al.*, 2013

Application of MALDI-TOF MS for the Identification of Food Borne Bacteria. Open Microbiol.J; 135-41p.

41. Renaudin., 2016

Les précautions « standard » seules suffisent-elles à maîtriser la diffusion des bactéries multi-résistantes en réanimation ? Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine présentée et

soutenue publiquement dans le cadre du troisième cycle de Santé Publique, UNIVERSITE LORRAINE, 67P.

42. Rougier., 2010

BACTERIOLOGIE, file:///C:/Users/user/Desktop/m%C3%A9moire%20nv/5.pdf, 5p.

43. Saadaoui.,2008

La fréquence des bactéries multi-résistantes à l'hôpital Hassanii de Settat .THESE pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : université Mohammed v-rabat faculté de médecine et de pharmacie –rabat ; 117P.

44. Sailo *et al.*, 2019

Pathogenic microbes contaminating mobile phones in hospital environment in Northeast India: incidence and antibiotic resistance, 11p.

45. Stephanie., 2009.

Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. THESE présentée DEVANT L'UNIVERSITE DE RENNES 1 pour obtenir le grade de : DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE RENNES, 191p.

46. Stéphanie., 2013

Infectiologie Microbiologie clinique et spectrométrie de masse. Thèse pour l'obtention du grade de docteur, Sciences de la Vie et de la Santé école doctorale, UNIVERSITE PARIS DESCARTES, 124p.

47. Teshale *et al.*, 2018

Bacterial Profile and Antimicrobial Susceptibility Pattern of the Isolates from Stethoscope, Thermometer, and Inanimate Surfaces of Mizan-Tepi University Teaching Hospital, Southwest Ethiopia, ID 9824251, 7 p

48. Vincent, 2000

Bactéries multi-résistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000 et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN), 87p.

49. Vincenza *et al.*, 2019

Drug-resistant bacteria on hands of healthcare workers and in the patient area: an environmental survey in Southern Italy's hospital, 32(4) 303–310p.

50. Workneh *et al.*, 2019

Bacterial contamination and antibiogram of isolates from health care workers' fomites at Felege Hiwot Referral Hospital, northwest Ethiopia, 33(2), 128-143.

51. YALA *et al.*, 2001

Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb, n°91 ; 12p.

52. Yves., 2016

<https://uclouvain.be/fr/sciencetoday/actualites/les-biofilms-bacteriens-au-microscope.html>
consulté le 04/09/2020

53. ZIAL., 2014.

La résistance bactérienne aux antibiotiques: apparition et stratégies de lutte, thèse d'exercice pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie à Limoges, 151p.

54. Znazen *et al.*, 2004. 2006.

Résistance de *streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en Tunis : étude multicentrique, Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax. Hôpital d'enfant, CHU Charles Nicolle, Tunis,4: 10 – 14p.

Résumé

Les bactéries isolées en milieu hospitalier sont des germes opportunistes responsables d'infections nosocomiales sévères et d'épidémies qui peuvent entraîner de grandes difficultés de prise en charge des patients, avec des situations d'impasse thérapeutique, en raison de leur résistance à une large variété d'antibiotiques.

Dans ce contexte, l'objectif principal de ce travail est basé sur une analyse de données à partir de 15 travaux internationaux, se basant sur la détermination des bactéries résistantes aux antibiotiques isolées à partir de plusieurs surfaces en milieux hospitaliers.

La synthèse des résultats a révélé que les bactéries dominantes et responsables d'infections, faisaient partie de la famille des *Enterobacteriaceae* avec une dominance de *Klebsiella pneumoniae* suivie par *E. coli*. Quant aux bactéries à Gram positif identifiées dans les différentes études, *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus dominante. Ainsi, plusieurs études ont démontré des résistances élevées de plusieurs souches bactériennes à l'érythromycine, suivie par l'Ampicilline, la Ciprofloxacine et la Meticilline.

De plus, les bactéries multi-résistantes étaient retrouvées sur différents sites, tels que les lavabos, les lits, les poignées de porte et les respirateurs.

Cette distribution des bactéries multi-résistantes souligne l'importance de la mise en place d'une veille microbiologique prenant en compte les surfaces dans les structures de soins visitées où la qualité de l'hygiène semble être déficiente.

Enfin, une étude régulière des isolats et la détermination des sensibilités aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.

Mots clés : Bactéries, antibiotiques, BMR, surfaces, milieu hospitalier, prévention.

ملخص

البكتيريا المعزولة في المستشفيات هي جراثيم انتهازية مسؤولة عن التهابات المستشفيات والأوبئة الشديدة التي يمكن أن تؤدي إلى صعوبات كبيرة في رعاية المرضى ، مع حالات من الجمود العلاجي ، بسبب مقاومتهم لمجموعة متنوعة من الأمراض. مضادات حيوية.

في هذا السياق ، يعتمد الهدف الرئيسي لهذا العمل على تحليل بيانات من 15 دراسة دولية ، بناءً على تحديد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة من عدة أسطح في المستشفيات.

أظهر تركيب النتائج أن البكتيريا السائدة المسؤولة عن العدوى كانت جزءًا من عائلة البكتيريا المعوية مع سيطرة الكلبسيلا المعوية تليها بكتيريا قولونية.

أما بالنسبة للبكتيريا إيجابية الجرام التي تم تحديدها في الدراسات المختلفة ، نأمل أن تكون المكورات العنقودية الذهبية هي الأكثر انتشارًا. وهكذا ، فقد أظهرت العديد من الدراسات مقاومة عالية للعديد من السلالات البكتيرية للإريثروميسين ، تليها الأمبيسيلين وسيبروفلوكساسين والميتيسيلين.

بالإضافة إلى ذلك ، تم العثور على بكتيريا متعددة المقاومة في مواقع مختلفة ، مثل الأحواض والأسرة ومقابض الأبواب وأجهزة التنفس الصناعي.

يؤكد هذا التوزيع للبكتيريا المقاومة المتعددة على أهمية إعداد ساعة ميكروبيولوجية مع مراعاة الأسطح في هياكل الرعاية التي تمت زيارتها حيث يبدو أن جودة النظافة معيبة.

أخيرًا ، يبدو أن الدراسة المنتظمة للعزلات وتحديد حساسيات المضادات الحيوية ضرورية لتوجيه العلاج بالمضادات الحيوية بشكل أفضل والحفاظ على فعالية المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا ، المضادات الحيوية ، الأسطح ، بيئة المستشفى ، الوقاية

Abstract

Bacteria isolated in hospitals are opportunistic germs responsible for severe nosocomial infections and epidemics which can lead to great difficulties in the management of patients, with situations of therapeutic impasse, due to their resistance to a wide variety of antibiotics.

In this context, the main objective of this study is based on an analysis of data from 15 international studies, based on the determination of bacteria resistant to antibiotics isolated from several surfaces in hospital settings.

The synthesis of the results revealed that the dominant bacteria responsible for infections were part of the *Enterobacteriaceae* family with a dominance of *Klebsiella pneumoniae* followed by *E.coli*. As for the Gram-positive bacteria identified in the various studies, *Staphylococcus aureus* is hopefully the most dominant. Thus, several studies have shown high resistance of several bacterial strains to erythromycin, followed by Ampicillin, Ciprofloxacin and Meticillin.

In addition, multi-resistant bacteria were found at different sites, such as sinks, beds, doorknobs and respirators.

This distribution of multi-resistant bacteria underlines the importance of setting up a microbiological watch taking into account the surfaces in the care structures visited where the quality of hygiene appears to be defective.

Finally, regular study of isolates and determination of antibiotic sensitivities appear to be necessary to better guide antibiotic therapy and preserve the effectiveness of antibiotics.

Keywords: Bacteria, antibiotics, MRB, surfaces, hospital environment, prevention.

Université Des Frères Mentouri Constantine 1 -Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie	
Département de biologie appliquée	
Soutenu par: SIAH rayene	Date de soutenance : 15/09/2020
Titre : L'antibiorésistance en milieu hospitalier	
Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel	
En Microbiologie et Hygiène Hospitalière	
<p>Les bactéries isolées en milieu hospitalier sont des germes opportunistes responsables d'infections nosocomiales sévères et d'épidémies qui peuvent entraîner de grandes difficultés de prise en charge des patients, avec des situations d'impasse thérapeutique, en raison de leur résistance à une large variété d'antibiotiques.</p> <p>Dans ce contexte, l'objectif principal de ce travail est basé sur une analyse de données à partir de 15 travaux internationaux, se basant sur la détermination des bactéries résistantes aux antibiotiques isolées à partir de plusieurs surfaces en milieux hospitaliers.</p> <p>La synthèse des résultats a révélé que les bactéries dominantes et responsables d'infections, faisaient partie de la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> avec une dominance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> suivie par <i>E.coli</i>. Quant aux bactéries à Gram positif identifiées dans les différentes études, <i>Staphylococcus aureus</i> est l'espèce la plus dominante. Ainsi, plusieurs études ont démontré des résistances élevées de plusieurs souches bactériennes à l'érythromycine, suivie par l'Ampicilline, la Ciprofloxacine et la Meticilline.</p> <p>De plus, les bactéries multi-résistantes étaient retrouvées sur différents sites, tels que les lavabos, les lits, les poignées de porte et les respirateurs.</p> <p>Cette distribution des bactéries multi-résistantes souligne l'importance de la mise en place d'une veille microbiologique prenant en compte les surfaces dans les structures de soins visitées où la qualité de l'hygiène semble être déficiente.</p> <p>Enfin, une étude régulière des isolats et la détermination des sensibilités aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.</p>	
Les mots clés : Bactéries, antibiotiques, BMR, surfaces, milieu hospitalier, prévention.	
Laboratoire de recherche Laboratoire de bactériologie à l'institut des sciences vétérinaires d'El-Khroube	
Jury d'évaluation : Présidente jury : Dr. CHENTLI A, Maitre de conférences « B » UFM, Cne 1 Rapporteur : Dr. DIB A. L, Maitre de conférences « A » UFM, Cne 1 Examinatrice : Dr. ZITOUNI H, Maitre de conférences « B » UFM, Cne 1	