

MULTIRÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA, P. FLUORESCENS ET STAPHYLOCOCCUS AUREUS ET SURVIE SUR DIVERS TISSUS HOSPITALIERS (*)

Nabila AUJJAR ⁽¹⁾, *Benâïssa ATTARASSI* ⁽²⁾,
Nour Eddine ELHALOUI ⁽²⁾, *Alain BADO* ⁽³⁾

Cinq souches de Pseudomonas aeruginosa, quatre de P. fluorescens et neuf de Staphylococcus aureus ont été isolées et étudiées pour leur résistance aux antibiotiques. En plus d'un degré élevé de résistance naturelle, une résistance acquise a été observée chez les souches de Pseudomonas, notamment aux carboxypénicillines, aux uréido pénicillines (ticarcilline, pipéracilline) et à la gentamicine. Les souches de S. aureus présentent une multirésistance aux aminosides (gentamycine, tobramycine, kanamycine, amikacine), aux fluoroquinolones (ofloxacine, ciprofloxacine) et aux macrolides (érythromycine).

Les souches ont été testées pour leur aptitude à survivre sur cinq tissus hospitaliers. Le taux moyen de survie varie de 5 à 145 jours. Il est minimal pour les champs opératoires, maximal sur les draps, sensiblement identique pour les habits et les pyjamas

(*) *Manuscrit reçu le 3 mai 2006.*

(1) *Délégation provinciale de la Santé, Hôpital El Idrissi, Laboratoire d'Analyses médicales, 14000 Kénitra, Maroc. auajjarnabila@hotmail.com*

(2) *Laboratoire de Biologie et Santé, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, 14000 Kénitra, Maroc. attarassi@hotmail.com, rymnour@yahoo.fr*

(3) *Laboratoire de Sciences végétales, Mycologie et Biotechnologie, GESVAB – EA 3675, Faculté des Sciences pharmaceutiques, Université Victor-Segalen Bordeaux 2, 146, rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, ISVV. abadoc@phyto.u-bordeaux2.fr*

d'opérés. La survie des souches de Pseudomonas est nettement plus longue que celle des staphylocoques, sauf sur les blouses. Ces résultats impliquent une désinfection régulière des tissus hospitaliers.

INTRODUCTION

Les infections contractées en milieu hospitalier, dites infections nosocomiales, constituent un problème de santé publique. L'émergence de la multirésistance chez les bactéries limite le choix thérapeutique et entraîne une augmentation du taux de mortalité, de morbidité, une durée prolongée de séjour hospitalier et un coût élevé [1-7]. En Europe, l'incidence des infections nosocomiales représente 5,5 à 9,9 % des admissions à l'hôpital [8]. Une enquête de prévalence réalisée en 1996 dans 830 hôpitaux français a donné un taux de 6,7 % [9]. Au Maroc, une enquête de prévalence réalisée en 1994 a montré qu'aucun hôpital n'échappe à ce péril infectieux ; ce taux atteint une moyenne de 10 % dans les hôpitaux régionaux [10].

Ces infections dépendent de l'état du patient et sont favorisées par la technicité des actes et traitements [11] et la multirésistance des bactéries aux antibiotiques couramment utilisés en thérapie humaine [12-17]. L'environnement hospitalier joue un rôle important dans la transmission des microorganismes [18-19]. Boyce *et al.* [18] ont montré que les blouses des infirmiers au contact de malades infectés par les staphylocoques, résistants à la méticilline, sont une source de propagation de ces souches.

L'ampleur des infections nosocomiales est liée à la capacité des souches bactériennes à survivre plus ou moins longtemps dans l'environnement hospitalier (surfaces, paillasses, sol, murs, tables d'opération, air, matériel médical, tissus, etc.) [12].

Peu d'études ont été consacrées à la survie des souches impliquées dans les infections nosocomiales [12, 20-22].

Dans ce travail, qui entre dans un programme de lutte contre les infections nosocomiales à l'Hôpital El Idrissi de Kénitra, trois espèces microbiennes fréquemment isolées au cours de infections nosocomiales ont été retenues, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* et *Staphylococcus aureus* et étudiées pour leur résistance à des antibiotiques couramment utilisés en hôpital. Ces souches ont été testées pour leur survie sur différents tissus (blouse, pyjamas d'opérés, draps, champs opératoires, habits).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Isolement et caractérisation des souches

Les souches ont été isolées à partir des pus prélevés au niveau de la plaie opératoire superficielle ou profonde chez des patients opérés ayant contracté une infection nosocomiale post-opératoire lors d'une enquête d'incidence sur les infections nosocomiales, réalisée à l'hôpital Al Farabi d'Oujda au cours de l'année 2000 [23].

Cinq souches de *Pseudomonas aeruginosa* et quatre de *P. fluorescens* ont été isolées sur milieu PBC [24] et neuf souches de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman. Les bactéries ont été identifiées à l'aide des clés standard et selon le Bergey's manual [25].

Résistance aux antibiotiques

Le profil de résistance des souches bactériennes a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton [26-27]. Des antibiotiques communément utilisés en thérapie humaine ont été retenus. Le nombre d'antibiotiques actifs contre les pseudomonas est limité. Il s'agit surtout des pénicillines anti-pseudomonales, céphalosporines de troisième génération, carbapénèmes, fluoroquinolones, particulièrement la ciprofloxacine et les aminoglycosides.

Les disques d'antibiotiques testés pour les pseudomonas contiennent chacun en µg ou UI : ticarcilline (*Tic.*, 75), ticarcilline + acide calvulanique (*Tim.*, 75 + 10), pipéracilline (*Pip.*, 75), pipéracilline + tazobactam (*Tzp.*, 110), cefsulodine (*Cfs*, 30), ceftazidime (*Caz*, 30), aztréonam (*Atm.*, 30) imipénème (*Imp.*, 10), gentamicine (*Gm.*, 10 UI), tobramycine (*Tob.*, 10), netilmicine (*Net.*, 30), amikacine (*Ak.*, 30), ofloxacine (*Ofx.*, 5), ciprofloxacine (*Cip.*, 5), colistine (*Cl.*, 10).

Une souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, a servi pour le contrôle de la qualité de l'antibiogramme ainsi que la résistance naturelle des pseudomonas aux antibiotiques : ampicilline (*Amp.*, 10), amoxicilline (*Aml.*, 25), céfalotine (*Cf.*, 30), cotrimoxazole (*Sxt.*, 25) et chloramphénicol (*C.*, 30). Ces antibiotiques ont été aussi testés sur les souches de pseudomonas isolées.

Les disques d'antibiotiques testés pour les staphylocoques contiennent chacun en µg ou UI : pénicilline G (*P.*, 10 UI), ampicilline (*Amp.*, 10), amoxicilline (*Aml.*, 25), oxacilline (*Ox.*, 5), érythromycine (*E.*, 15 UI), spiramycine (*Sp.*, 100), lincomycine (*L.*, 15), pristnamycine (*Pt.*,

15), tétracycline (*Te.*, 30 UI), cotrimoxazole (*Sxt.*, 25), gentamycine (*Gm.*, 10 UI), tobramycine (*Tob.*, 10), kanamycine (*K.*, 30 UI), amikacine (*Ak.*, 30), ofloxacin (*Ofx.*, 5), ciprofloxacine (*Cip.*, 5), rifampicine (*Ra.*, 30).

La qualité de l'antibiogramme est contrôlée à l'aide de la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Les disques d'antibiotiques ont été appliqués sur milieu Mueller Hinton couvert par un inoculum de 10^6 UFC/ml pour les pseudomonas et 10^7 UFC/ml pour les staphylocoques. La résistance des staphylocoques à la méticilline est recherchée à l'aide des disques d'oxacilline (*Ox.*, 5 μ g) sur milieu Mueller Hinton hypersalé (NaCl 4 %) [28]. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la résistance ou la sensibilité de la souche a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

Test de survie

Les 18 souches sont d'abord incubées dans un bouillon cœur cerveau 18 h à 37°C. Les cellules sont ensuite centrifugées 10 min à 5000 g et le culot obtenu a été lavé trois fois dans l'eau physiologique (NaCl 0,9 %) stérile. La survie est liée à la taille de l'inoculum [21]. En effet, la concentration de l'inoculum conditionne la viabilité des bactéries vivant dans des conditions de nutrition limitée [11]. Neely et Maley [12] ont montré que la viabilité des bactéries est beaucoup plus importante pour un inoculum de 10^5 par rapport à celui de 10^2 UFC/ml. C'est pourquoi la concentration cellulaire finale a été ajustée à 10^5 CFU/ml.

Des échantillons de tissus utilisés à l'hôpital (draps, champs opératoires, pyjamas d'opérés, blouses, habits) ont été stérilisés 20 min à 121°C. Cinq morceaux de tissus de 0,8 cm² ont été disposés dans chaque boîte de Petri stérile, de 120 mm de diamètre, sans se toucher les uns les autres. Les échantillons de tissus ont été préparés en nombre suffisant pour couvrir une durée d'expérience pouvant aller jusqu'à 145 jours (31 boîtes de Petri par échantillon de tissu et par répétition). Chaque échantillon de tissu a été inoculé avec 10 μ l de la suspension bactérienne contenant 10^5 CFU/ml, puis incubés à $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Après chaque heure pour les huit premières heures et par la suite chaque jour, l'échantillon de tissu est inoculé dans un tube contenant du bouillon cœur cerveau puis incubé 48 h à 37 °C.

Chaque expérience est répétée trois fois, à raison d'un prélèvement par boîte. La viabilité est déterminée par la présence ou l'absence de trouble. Tout tube non trouble est confirmé par ensemencement sur milieu PBC pour les pseudomonas et sur milieu Chapman pour les staphylocoques.

RÉSULTATS

En plus du degré élevé de résistance naturelle à l'ampicilline, l'amoxicilline, la céfalotine, le cotrimoxazole et le chloramphénicol, une résistance acquise a été aussi observée chez les souches de *Pseudomonas* isolées, particulièrement pour les souches S1 et S6 (Tableau I). La résistance aux carboxypénicillines, aux uréido pénicillines (ticarcilline, pipéracilline) et à la gentamicine est la plus fréquente. En revanche, la résistance aux céphalosporines de troisième génération et aux quinolones (ofloxacine et ciprofloxacine) est faible. L'amikacine et l'imipénème s'avèrent très actifs contre les pseudomonas qui ne présentent aucune résistance.

Tableau I :
Profil de résistance aux antibiotiques de neuf souches de pseudomonas isolées du pus de patients ayant contracté une infection nosocomiale post-opératoire.

Souche de <i>Pseudomonas</i>	Profil de résistance en plus de $Amp^R Aml^R Cf^R Sxt^R C^R$
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	$Tic^S Tim^S Pip^S Tzp^S Cfs^S Caz^S Atm^S Gm^S Tob^S Net^S Ofx^S Cip^S$
S1 <i>P. aeruginosa</i>	$Tic^R Tim^R Pip^R Tzp^R Cfs^R Caz^R Atm^R Gm^R Tob^R Ofx^R Cip^R$
S2 <i>P. aeruginosa</i>	$Tic^R Pip^R Tzp^R Cfs^R Caz^R Gm^R Net^R$
S3 <i>P. aeruginosa</i>	$Tic^R Pip^R Gm^R Net^R Cfs^R$
S4 <i>P. aeruginosa</i>	$Tic^R Tim^R Gm^R$
S5 <i>P. aeruginosa</i>	$Gm^R Tob^R Ofx^R$
S6 <i>P. fluorescens</i>	$Tic^R Tim^R Pip^R Tzp^R Cfs^R Caz^R Atm^R Gm^R Net^R Ofx^R Cip^R$
S7 <i>P. fluorescens</i>	$Tic^R Pip^R Ofx^R Cip^R Cfs^R$
S8 <i>P. fluorescens</i>	$Gm^R Net^R Ofx^R$
S9 <i>P. fluorescens</i>	$Gm^R Tob^R$

Amp (ampicilline), *Aml* (amoxicilline), *Cf* (cefalotine), *Sxt* (cotrimoxazole), *C* (chloramphénicol), *Tic* (ticarcilline), *Tim* (ticarcilline + acide calvulanique), *Pip* (pipéracilline), *Tzp* (pipéracilline + tazobactam), *Cfs* (cefsulodine), *Caz* (ceftazidine), *Atm* (aztréonam), *Gm* (gentamicine), *Tob* (tobramycine), *Net* (netilmicine), *Ofx* (ofloxacine), *Cip* (ciprofloxacine).

Les souches de *S. aureus* isolées apparaissent multirésistantes aux antibiotiques (Tableau II). Deux phénotypes de résistance importants ont été enregistrés : les souches SASM P^RM^S (résistantes à la pénicilline et sensibles à la méticilline) et les souches SARM P^RM^R (résistantes à la pénicilline et à la méticilline).

Chez les souches P^RM^S, la résistance aux aminosides, aux quinolones et aux macrolides est faible.

Les souches P^RM^R présentent une résistance aux aminosides, aux fluoroquinolones et aux macrolides ; c'est le cas des souches S10 et S12.

Tableau II :
Profil de résistance aux antibiotiques de neuf souches de *Staphylococcus aureus* isolées du pus de patients ayant contracté une infection nosocomiale post-opératoire.

Souche de <i>Staphylococcus aureus</i>	Profil de résistance
ATCC 25923	$P^S Amp^S Aml^S Ox^S Gm^S Tob^S K^S Ak^S E^S Sp^S L^S Pt^S Ofx^S Cip^S Sxt^S$
S10	$P^R Ox^R Gm^R Tob^R K^R Ak^R E^R Sp^R L^R Ofx^R Cip^R$
S11	$P^R Ox^R Gm^R Tob^R K^R Ak^R E^R Ofx^R Cip^R$
S12	$P^R Ox^R Gm^R Tob^R K^R Ak^R E^R Ofx^R Cip^R$
S13	$P^R Amp^R Aml^R Tob^R K^R Ak^R E^R$
S14	$P^R Amp^R Aml^R Te^R E^R$
S15	$P^R Amp^R Aml^R Sxt^R$
S16	$P^R Amp^R Aml^R$
S17	$P^R Amp^R Aml^R$
S18	$P^R Amp^R Aml^R$

P (pénicilline G), *Amp* (ampicilline), *Aml* (amoxicilline), *Ox* (oxacilline), *Gm* (gentamycine), *Tob* (tobramycine), *K* (kanamycine), *Ak* (amikacine), *E* (érythromycine), *Sp* (spiramycine), *L* (lincomycine), *Pt* (pristinamycine), *Te* (tétracycline), *Ofx* (ofloxacin), *Cip* (ciprofloxacine), *Sxt* (cotrimoxazole)

Toutes les souches de *Staphylococcus* étudiées survivent en moyenne au moins cinq jours sur tous les tissus hospitaliers testés (Tableau III). La survie est de 5 à 14 jours sur les champs d'opérés, de 11 à 21 jours sur les habits et pyjamas d'opérés, de 22 à 40 jours sur les blouses. Le temps de survie le plus prolongé (104 jours) est enregistré sur les draps hospitaliers.

Tableau III :
Survie des souches de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *P. fluorescens*, isolées chez des patients ayant contracté une infection nosocomiale post-opératoire sur différents tissus hospitaliers.

Microorganisme	Survie des isolats dans différents tissus hospitaliers (en jours)				
	Champs opératoires	Blouse	Pyjamas d'opérés	Habits	Draps
S1 <i>P. aeruginosa</i>	40 ± 15	60 ± 25	90 ± 18	85 ± 15	145 ± 21
S2 <i>P. aeruginosa</i>	30 ± 13	52 ± 24	102 ± 15	90 ± 10	140 ± 12
S3 <i>P. aeruginosa</i>	40 ± 15	60 ± 23	82 ± 19	90 ± 18	140 ± 23
S4 <i>P. aeruginosa</i>	48 ± 15	54 ± 23	80 ± 10	120 ± 25	140 ± 15
S5 <i>P. aeruginosa</i>	45 ± 17	40 ± 20	90 ± 20	85 ± 18	140 ± 25
Moyenne	41 ± 15	53 ± 23	89 ± 16	94 ± 17	141 ± 19
S6 <i>P. fluorescens</i>	37 ± 15	33 ± 13	80 ± 22	85 ± 16	145 ± 15
S7 <i>P. fluorescens</i>	50 ± 20	32 ± 18	96 ± 18	90 ± 19	130 ± 15
S8 <i>P. fluorescens</i>	33 ± 15	30 ± 11	70 ± 20	83 ± 12	135 ± 15
S9 <i>P. fluorescens</i>	30 ± 13	44 ± 17	94 ± 18	80 ± 15	128 ± 12
Moyenne	38 ± 16	35 ± 15	85 ± 20	85 ± 16	135 ± 14
S10 <i>S. aureus</i> (SARM)	06 ± 01	30 ± 15	14 ± 02	14 ± 02	85 ± 10
S11 <i>S. aureus</i> (SARM)	09 ± 01	22 ± 07	19 ± 03	14 ± 02	85 ± 09
S12 <i>S. aureus</i> (SARM)	14 ± 02	40 ± 08	21 ± 04	19 ± 02	104 ± 12
S13 <i>S. aureus</i> (SASM)	06 ± 01	30 ± 06	16 ± 02	16 ± 02	80 ± 10
S14 <i>S. aureus</i> (SASM)	14 ± 03	22 ± 07	19 ± 02	15 ± 03	80 ± 08
S15 <i>S. aureus</i> (SASM)	14 ± 04	40 ± 10	14 ± 02	14 ± 04	90 ± 14
S16 <i>S. aureus</i> (SASM)	12 ± 02	28 ± 08	14 ± 02	12 ± 01	85 ± 11
S17 <i>S. aureus</i> (SASM)	05 ± 01	26 ± 05	16 ± 02	11 ± 02	62 ± 12
S18 <i>S. aureus</i> (SASM)	06 ± 01	30 ± 08	19 ± 02	16 ± 01	90 ± 08
Moyenne	10 ± 02	30 ± 08	17 ± 02	15 ± 02	85 ± 10

SARM, SASM : *Staphylococcus aureus* résistants ou sensibles à la méticilline

Il n'existe pas de différence significative (au seuil $p < 0,5$) entre les souches de *S. aureus* résistantes et sensibles à la méticilline. La souche S12 s'avère la plus résistante (Tableau III). Quelle que soit la nature des tissus hospitaliers, la survie des souches de *Pseudomonas* est toujours plus longue : 30 à 50 jours sur les champs, 30 à 60 jours sur les blouses, 80 à 102 jours sur les pyjamas d'opérés, 80 à 120 jours sur les habits et 128 à 145 jours sur les draps. La différence est cependant moins marquée sur les blouses : 30 à 60 jours contre 22 à 40 jours.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les pseudomonas sont des espèces opportunistes naturellement résistantes à plusieurs antibiotiques : pénicillines du groupe A (ampicilline et dérivés), céphalosporines de première et deuxième génération, chloramphénicol et triméthoprime. À cette résistance naturelle s'ajoute une résistance acquise.

Les souches de *Pseudomonas* étudiées sont résistantes surtout aux antibiotiques de type pénicillines (ticarcilline, pipéracilline), aux céphalosporines de troisième génération, aux fluoroquinolones (ofloxacine, ciprofloxacine) et aux aminoglycosides (gentamicine). Le phénotype de résistance le plus fréquent est *Tic^R Pip^R Gm^R*.

La résistance de *P. aeruginosa* aux bêtalactamines est due à l'existence de métallo-bêtalactamases et de bêtalactamases à spectre étendu, conférant une résistance à la majorité des bêtalactamines avec pour corollaire un échec thérapeutique [29]. En France, 11 % des souches de *P. aeruginosa* possèdent des β -lactamases transférables [30]. Dans notre étude, l'imipénème reste encore actif contre les souches de *Pseudomonas* étudiées. Au contraire, Carmeli *et al.* [31] ont étudié le risque d'émergence de la résistance associée à la pipéracilline, la ceftazidime, la ciprofloxacine et l'imipénème et ont observé un risque d'émergence de la résistance variable, maximal pour l'imipénème ($p < 0,001$).

Les pseudomonas sont donc des bactéries qui cumulent de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques, imposant une analyse régulière de leur activité. Ils sont impliqués dans plusieurs cas d'infections nosocomiales, notamment dans les unités de soins intensifs [32-34]. En effet, les pseudomonas possèdent des éléments génétiques susceptibles d'acquérir

ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques, décrits sous le nom d'intégrons [35-37]. Ces intégrons peuvent héberger des cassettes, éléments mobiles formés d'un gène et d'un site spécifique de recombinaison [38-39]. Plusieurs classes d'intégrons ont été définies ; trois d'entre elles (classes 1, 2 et 3), bien caractérisées, sont impliquées dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques [40-41]. Les *Pseudomonas* possèdent des cassettes décrites sur les intégrons de classe 1 (résistance aux β -lactamines, aux aminosides, au chloramphénicol, au triméthoprime et à la rifampicine) et de classe 3 (résistance aux β -lactamines et aux aminosides) [42].

Les staphylocoques sont les agents les plus impliqués dans les suppurations. Leur vie commensale, associée à la virulence de certaines espèces, explique que ces bactéries représentent une cause majeure d'infections [43].

Toutes les souches de staphylocoques étudiées sont résistantes à la pénicilline. Cette résistance est due à la production de pénicillinase [28]. Berche *et al.* [11] et Leclercq [44] ont montré que 70 à 90 % des souches de *S. aureus* résistent à la pénicilline.

Cette résistance à la pénicilline s'accompagne d'une résistance à l'ampicilline, l'amoxicilline, la ticarcilline et la pipéracilline.

Au cours de cette étude, les souches de *S. aureus* isolées ont montré une grande variété phénotypique et un degré élevé de multirésistance, allant jusqu'à treize antibiotiques. Les staphylocoques, en particulier *S. aureus*, posent des problèmes thérapeutiques parfois difficiles du fait de la fréquence élevée de souches multirésistantes [44].

L'isolement de trois souches de *S. aureus* résistantes à des antibiotiques de type méticilline sur neuf est inquiétant. La dissémination de telles souches dans l'environnement hospitalier constitue un véritable danger pour les patients hospitalisés. Ces souches sont connues pour posséder une résistance croisée aux bêtalactamines [44]. À Taiwan, par exemple, leur incidence a augmenté de 26,3 % en 1986 à 77 % en 2001 [45].

Identifiées au début des années soixante [46], les SARM ont connu une distribution mondiale [47]. En effet, la résistance à la méticilline est due à la synthèse d'une protéine de liaison aux pénicillines PLP2a, codée par le gène *mecA* [44]. De leur côté, Chongtrakool *et al.* [48] ont montré que chez les staphylocoques, le gène *mecA* est porté par une cassette chromosomique *mec* (*SCCmec*).

Les souches SARM, isolées au cours cette étude, sont aussi résistantes aux aminosides, aux quinélones et aux macrolides. En effet, la résistance des *S. aureus* à la méticilline est généralement associée à une résistance à la gentamicine qui est croisée à tous les aminosides, les quinolones et les macrolides [44].

Les souches de *Staphylococcus* et *Pseudomonas* peuvent survivre jusqu'à 145 jours sur les différents tissus hospitaliers, la survie la plus longue étant observée sur les draps. Neely et Maley [12] ont montré que la survie des staphylocoques et des entérocoques dépend étroitement du type de tissu : la survie est plus longue sur le polyester que sur le coton. Les staphylocoques survivent jusqu'à trois semaines sur les habits [22].

La survie des staphylocoques et des pseudomonas pathogènes dans les tissus hospitaliers et notamment les draps montre le danger que représentent ces bactéries dans les infections nosocomiales. Cette survie prolongée des souches bactériennes pathogènes sur les différents tissus hospitaliers constitue un vrai péril infectieux intra-hospitalier.

Ces différents tissus hospitaliers constituent un des vecteurs importants de transport des pseudomonas et des staphylocoques aux patients hospitalisés. D'où la nécessité d'une application rigoureuse et efficace des procédures de désinfection de l'environnement hospitalier.

RÉFÉRENCES

- 1 - CCLIN Sud-Est. Réseau ISO Sud-Est : un an de surveillance des infections du site opératoire. - *Bull. Epid. Heb.*, 1996, **42**, 183-185.
- 2 - Carmeli (Y.), Troillet (N.), Karchmer (A.W.) and Samore (M.H.) - Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. - *Arch. Intern. Med.* 1999, **159**(10), 1127-1132.
- 3 - Cometta (A.), Baumgartner (J.D.), Lew (D.), Zimmerli (W.), Pittet (D.), Chopart (P.), Schaad (U.), Herter (C.), Eggimann (P.), Huber (O.) - Prospective randomized comparison of imipenem monotherapy with imipenem plus neltilmicin for treatment of severe infections in nonneutropenic patients. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1994, **38**(6), 1309-1313.

- 4 - Fink (M.P.), Snyderman (D.R.), Niederman (M.S.), Leeper (K.V.Jr.), Johnson (R.H.), Heard (S.O.), Wunderink (R.G.), Caldwell (J.W.), Schentag (J.J.), Siami (G.A.), Zamek (R.L.), Haverstock (D.C.), Reinhart (H.H.), Echols (R.M.) - Treatment of severe pneumonia in hospitalized patients: results of a multicenter, randomized, double-blind trial comparing intravenous ciprofloxacin with imipenem-cilastatin. Pneumonia Study Group. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1994, **38**(3), 547-557.
- 5 - Rio (Y.), Pina (P.), Jurin (F.), Allouch (P.), Didion (J.), Chardon (H.), Chiche (D.) - Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques, isolés chez des malades de soins intensifs français en 1998. Phénotypes de résistance aux β -lactamines. Étude ESCRIME. - *Pathol. Biol.*, 2002, **50**(1), 12-17.
- 6 - Milatovic (D.), Braveny (I.) - Development of resistance during antibiotic therapy. - *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1987, **6**(3), 234-244.
- 7 - Pechère (J.C.) and Vladoianu (I.R.) - Development of resistance during ceftazidime and cefepime therapy in a murine peritonitis model. - *J. Antimicrob. Chemother.*, 1992, **29**, 563-573.
- 8 - Maugat (S.), Carbonne (A.), Astagneau (P.) - Réduction significative des infections nosocomiales : analyse stratifiée des enquêtes de prévalence conduites en 1996 et 2001 dans l'inter-région Nord. - *Pathol. Biol. (Paris)*, 2003, **51**(8-9), 483-489.
- 9 - Golliot (F.), Baffoy (N.), Astagneau (P.), Brucker (G.) - Les infections nosocomiales chez les patients opérés. Résultats de l'enquête de prévalence dans l'inter-région Paris-Nord en 1996. - *Bull. Epid. Heb.*, 1998, (29), 125-126. <http://www.bdsp.tm.fr/FullText/Show.asp?Ref=167071>
- 10 - Ottmani (S.), Amrani (J.F.) - Enquête de prévalence des infections nosocomiales au niveau de 24 hôpitaux du Maroc. - *Direction des hôpitaux, Rabat, Maroc*, 1994, 103 p.
- 11 - Berche (P.), Gaillard (J.L.), Simonet (M.) - Bactériologie. Les bactéries des infections humaines. - *Ed. Flammarion*, « De la biologie à la clinique », 1988, 649 p.
- 12 - Neely (A.N.), Maley (M.P.) - Survival of *Enterococci* and *Staphylococci* on hospital fabrics and plastic. - *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**(2), 724-726.

- 13 - Podschun (R.), Ullmann (U.) - *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. - *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, **11**(4), 589-603.
- 14 - Archibald (L.), Phillips (L.), Monnet (D.), McGowan (J.E.Jr.), Tenover (F.), Gaynes (R.) - Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: increasing importance of the intensive care unit. - *Clin. Infect. Dis.*, 1997, **24**(2), 211-215.
- 15 - Jones (R.N.), Kehrberg (E.N.), Erwin (M.E.), Anderson (S.C.) - Prevalence of important pathogens and antimicrobial activity of parenteral drugs at numerous medical centers in the United States, I. Study on the threat of emerging resistances: real or perceived? Fluoroquinolone Resistance Surveillance Group. - *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 1994, **19**(4), 203-215.
- 16 - Pfaller (M.A.), Jones (R.N.), Marshall (S.A.), Coffman (S.L.), Hollis (R.J.), Edmond (M.B.), Wenzel (R.P.) - Inducible AmpC β -lactamase producing gram-negative bacilli from bloodstream infections: Frequency, antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology in a national surveillance program (SCOPE). - *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 1997, **28**, 211-219.
- 17 - Fridkin (S.K.), Steward (C.D.), Edwards (J.R.), Pryor (E.R.), McGowan (J.E. Jr.), Archibald (L.K.), Gaynes (R.P.), Tenover (F.C.) - Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals: project ICARE phase 2. Project Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) hospitals. - *Clin. Infect. Dis.*, 1999, **29**(2), 245-252.
- 18 - Boyce (J.M.), Potter-Bynoe (G.), Chenevert (C.), King (T.) - Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. - *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 1997, **18**(9), 622-627.
- 19 - Porwancher (R.), Sheth (A.), Remphrey (S.), Taylor (E.), Hinkle (C.), Zervos (M.) - Epidemiological study of hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Possible transmission by an electronic ear-probe thermometer. - *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 1997, **18**(11), 771-783.
- 20 - Beard-Pegler (M.A.), Stubbs (E.), Vickery (A.M.) - Observations on the resistance to drying of staphylococcal strains. - *J. Med. Microbiol.*, 1998, **26**(4), 251-255.

- 21 - Scott (E.), Boomfield (S.F.) - The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. - *J. Appl. Bacteriol.*, 1990, **68**(3), 271-278.
- 22 - Wilkoff (L.J.), Westbrook (L.), Dixon (G.J.) - Factors affecting the persistence of *Staphylococcus aureus* on fabrics. - *Appl. Microbiol.*, 1969, **17**(2), 268-274.
- 23 - Auajjar (N.), Attarassi (B.), Belabed (A.), El Haloui (N.) - Incidence des infections en milieu chirurgical, cas de la région orientale du Maroc. - *Biol. Santé*, 2006, sous presse.
- 24 - Institut Pasteur - Milieux et réactifs de laboratoire, - *Ed. Institut Pasteur Production*, 1978, 252 p.
- 25 - Bergey's Manual of Systematic bacteriology - *Vol 1. Ed. Williams and Wilkis*, 1984.
- 26 - Prats (G.), Mirelis (B.), Llovet (T.), Munoz (C.), Miro (E.), Navarro (F.) - Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985-1987 and 1995-1998 in Barcelona. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, **44**, 1140-1145.
- 27 - Durmaz (B.), Durmaz (R.), Sahin (K.) - Methicillin-resistance among Turkish isolates of *Staphylococcus aureus* strains from nosocomial and community infections and their resistance patterns using various antimicrobial agents. - *J. Hosp. Infect.*, 1997, **37**(4), 325-329.
- 28 - Lyon (B.R.), Skurray (R.) - Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. - *Microbiol. Rev.*, 1987, **51**(1), 88-134.
- 29 - Lombardi (G.), Luzzaro (F.), Docquier (J.D.), Riccio (M.L.), Perilli (M.), Coli (A.), Amicosante (G.), Rossolini (G.M.), Toniolo (A.) - Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- β -lactamase. - *J. Clin. Microbiol.* 2002, **40**(11), 4051-4055.
- 30 - Nordmann (N.) - Mécanismes de résistance aux bêtalactamines de *Pseudomonas aeruginosa*. - *Ann. Fr. Anesthésie Réanim.*, 2003, **22**(6), 527-530.
- 31 - Carmeli (Y.), Troillet (N.), Eliopoulos (G.M.), Samore (M.H.) - Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, **43**(6), 1379-1382.

- 32 - Widmer (A.F.), Wenzel (R.P.), Trilla (A.), Bale (M.J.), Jones (R.N.), Doebbeling (B.N.) - Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: probable transmission via hands of a health care worker. - *Clin. Infect. Dis.*, 1993, **16**(3), 372-376.
- 33 - Bingen (E.), Bonacorsi (S.), Rohrlich (P.), Duval (M.), Lhopital (S.), Brahimi (N.), Vilmer (E.), Goering (R.V.) - Molecular epidemiology provides evidence of genotypic heterogeneity of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* serotype O:12 outbreak isolates from a pediatric hospital. - *J. Clin. Microbiol.*, 1996, **34**(12), 3226-3229.
- 34 - Pellegrino (F.L.), Teixeira (L.M.), Carvalho (M.G.), Nouer (S.A.), De Oliveira (M.P.), Sampaio (J.L.), Freitas (A.D.), Ferreira (A.L.), Amorim (E.L.), Riley (L.W.), Moreira (B.M.) - Occurrence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. - *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**(7), 2420-2424.
- 35 - Naas (T.), Sougakoff (W.), Casetta (A.), Nordmann (P.) - Molecular characterization of OXA-20, a novel class D β -lactamase, and its integron from *Pseudomonas aeruginosa*. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, **42**(8), 2074-2083.
- 36 - Poirel (L.), Girlich (D.), Naas (T.), Nordmann (P.) - OXA-28, an extended-spectrum variant of OXA-10 β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its plasmid- and integron-located gene. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**(2), 447-453.
- 37 - Giuliani (F.), Docquier (J.D.), Riccio (M.L.), Pagani (L.), Rossolini (G.M.) - OXA-46, a new class D β -lactamase of narrow substrate specificity encoded by a blaVIM-1-containing integron from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**(5), 1973-1980.
- 38 - Hall (R.M.), Collis (C.M.) - Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of genes cassettes and integrons. - *Drug Resist. Updates*, 1998, **1**(2), 109-119.
- 39 - Sekiguchi (J.I.), Asagi (T.), Miyoshi-Akiyama (T.), Fujino (T.), Kobayashi (I.), Morita (K.), Kikuchi (Y.), Kuratsuji (T.), Kirikae (T.) - Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its *aac(6')-iae* gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**(9), 3734-3742.

- 40 - Hall (R.M.), Collis (C.M.) - Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. - *Mol. Microbiol.*, 1995, **15**(4), 593-600.
- 41 - Hansson (K.), Sundström (L.), Pelletier (A.), Roy (P.H.) - IntI2 integron integrase in Tn7. - *J. Bacteriol.*, 2002, **184**(6), 1712-1721.
- 42 - Ploy (M.C.), Denis (F.), Lambert (T.) - Les intégrons : un système original de capture de gènes chez les bactéries. - *Médecine / Sciences*, 2000, **16** (2), 255-259. - <http://ist.inserm.fr/BASIS/medsci/fqmb/export/DDD/6121.pdf>
- 43 - Le Minor (L.), Veron (M.) - Chap. 30. Les staphylocoques et les microcoques. In *Bactériologie médicale*. Ed. Flammarion, 1984, 526 p.
- 44 - Leclercq (R.) - Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. - *Ann. Fr. Anesth. Réanim.*, 2002, **21**(5), 375-383.
- 45 - Hsueh (P.R.), Teng (L.J.), Chen (W.H.), Pan (H.J.), Chen (M.L.), Chang (S.H.), Luh (K.T.), Lin (F.Y.) - Increasing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing nosocomial infections at a university in Taiwan from 1986 to 2001. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, **48**(4), 1361-1364.
- 46 - Duckworth (G.J.), Jordens (J.Z.) - Adherence and survival properties of an epidemic methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* compared with those of methicillin-sensitive strains. - *J. Med. Microbiol.*, 1990, **32**(3), 195-200.
- 47 - Muller (A.), Thouverez (M.), Talon (D.), Bertrand (X.) - Contribution de la pression de sélection antibiotique dans l'acquisition de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans un centre hospitalier universitaire. - *Pathol. Biol. (Paris)*, 2003, **51**(8-9), 454-459.
- 48 - Chongtrakool (P.), Ito (T.), Ma (X.X.), Kondo (Y.), Trakulsomboon (S.), Tiensasitorn (C.), Jamklang (J.), Chavalit (T.), Song (J.H.), Hiramatsu (K.) - Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCC*mec* elements. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**(3), 1001-1012.

ABSTRACT

Multidrug-resistance of *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* and *Staphylococcus aureus* and survival on hospital fabrics

Five *Pseudomonas aeruginosa*, four *P. fluorescens*, and nine *Staphylococcus aureus* strains were isolated and studied for their resistance to antibiotics. In addition to a high degree of natural resistance, an acquired resistance was observed for *Pseudomonas* strains particularly against carboxypenicillin, ureido penicillin (ticarcillin, piperacillin) and gentamycin. *Staphylococcus aureus* strains also presented a multiresistance to aminosides (gentamycin, tobramycin, kanamycin, amikacin), fluoroquinolones (ofloxacin, ciprofloxacin), and macrolides (erythromycin).

The strains were tested for their aptitude to survive on five hospital fabrics. The average survival rate varied from 5 to 145 days. It was minimal on operative fields, maximum on sheets, and roughly identical for clothes and pyjamas. Except for blouses, survival of *Pseudomonas* strains was definitely longer than that of *Staphylococcus*. These results suggest the need to regularly disinfect hospital fabrics.

Key-words: antibiotics, hospital fabrics, multiresistance, nosocomial infections, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*
