

Isolement, identification et détermination du profil phénotypique des bactéries *bacilles gram négatifs*, isolées à partir des eaux collectées de bains maures « Hammam »

[Isolation, identification and determination of antibiotic susceptibility profile of bacteria Gram-Negative bacilli isolated from Moorish baths water “Hammam”]

A. Esmail^{1,2}, N. Chahboun¹, H. Abed¹, Z. Mennane¹, Rachid Ijoub¹, A. Khadmaoui⁴, H. Elhartiti¹, M. Ouhssine¹, and E. H. Berny¹

¹Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité (LABEQ), Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kénitra, Maroc

²Department of medical microbiology, Faculty of Science, Ibb University, 1120 Ibb, Yemen

³Département de bactériologie, Institut national d'hygiène, avenue Ibn Batouta, B.P. 769, Agdal, Rabat, 11000, Maroc

⁴Laboratory of Genetics and Biometrics, Faculty of Sciences, University Ibn Tofaïl, Kenitra, Morocco

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The Moorish baths "Hammam" are highly visited by Moroccan consumers. The aim of this study is to establish the phenotypic profile of gram negative bacteria isolated from water collected from Moorish baths and test their power of resistance and antibiotic susceptibility. Using the gallery (API bioMérieux[®]), we isolated 25 bacterial strains included 10 different genres. The *Escherichia* species are listed 20%, 16% *Enterobacter*, *Klebsiella* 16%, 8% *Pseudomonas*, and other species. The study of the profile of antibiotic susceptibility revealed that all species *Enterobacteriaceae* showed complete susceptibility to Imipenem (IPM) and Gentamicin (GEN), and resistance from the weak to the strong degree to other antibiotics. While the group of non-*Enterobacteriaceae* showed complete resistance to Ticarcillin (TIC), Piperacillin + Tazobactam (TZP), Amoxicillin + Clavulanic Ac (AMC), Ceftazidime (CAZ), Ticarcillin + Clavulanic Ac (TIM) and Trimethoprim (W).

KEYWORDS: identification, Gram-negative bacilli, Moorish baths, antibiotics.

RESUME: Les bains maures « hammam » sont hautement visités par les consommateurs marocains. Le but de ce travail est d'établir le profil phénotypique des espèces microbiennes isolées à partir des échantillons d'eau des bains maures et tester leur pouvoir de résistance et sensibilité aux antibiotiques. Par l'utilisation de la galerie (API[®] BioMérieux), nous avons isolé 25 souches bactériennes inclus 10 genres différents. Les espèces répertoriées sont les *Escherichia* 20%, *Enterobacter* 16%, *Klebsiella* 16%, *Pseudomonas* 8%, ainsi que d'autres espèces. L'étude du profil de la sensibilité aux antibiotiques, révèle que toutes les espèces *enterobacteriaceae* ont montré une sensibilité totale aux *imipénème* et *gentamicine*, et une résistance allant du faible au fort degré aux autres antibiotiques. Alors que le groupe des *non-enterobacteriaceae* a montré une résistance totale aux *Ticarcilline(TIC)*, *Piperacillin + tazobactam (TZP)*, *Amoxicilline + Ac clavulanique (AMC)*, *Céftazidime(CAZ)*, *Ticarcilline + Ac clavulanique(TIM)*, et *Trimethoprim(W)*.

MOTS-CLEFS: identification, bacilles gram négatifs, bains maures, l'antibiotique.

1 INTRODUCTION

Les bains maures sont fréquemment visités par les marocains. Ce sont des lieux de purification, de relaxation et aussi de contraction de dermatoses. Cela pourrait être un facteur de risque majeur pour la santé des consommateurs. Toutefois, les puits alimentant les bains en eau sont individuels, souvent mal protégés, surtout mal traités et ne font pas l'objet d'une surveillance systématique comme celle des réseaux d'adduction. Par ailleurs, les travaux de recherches menés par Benouis (2008) ont montré que l'eau extraite des puits alimentant ces bains contient des contaminants fécaux qui rendent l'eau impropre. L'analyse des eaux froides et chaudes, émanant directement des puits et alimentant des bains maures de la ville de Marrakech, a révélé l'absence totale de chlore résiduel et la présence de contamination bactérienne d'origine fécale (Laraqui CE. Et al, 2000).

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier le profil systématique et phénotypique de certains isolats extraits des eaux des bains maures et tester leur sensibilité aux antibiotiques.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 ISOLEMENT ET IDENTIFICATION

L'identification a été faite selon le type de germes, à partir du milieu de (EMB). Des colonies rose ou vert ont été isolées et purifiées trois fois sur un milieu de gélose nutritif ; suivi d'une coloration de gram et des tests de catalase, oxydase, mobilité et réduction de nitrate. Des colonies de pigmentations vert ou jaune correspondantes aux *Pseudomonas* ont été isolées, purifiées et identifiées de la même manière comme décrite ci-dessus.

2.2 SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES ET DETECTION DES PHENOMENES DE RESISTANCE

La sensibilité des isolats aux antibiotiques est testée sur milieu gélose de Muller-Hinton. Selon la recommandation du CLSI (2008) La méthode utilisée est celle de diffusion à partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélose de Muller-Hinton. Une suspension en solution saline (0,9%NaCl) a été préparée équivalente au standard McFarland 0,5 ($\approx 10^8$ UFC/ml). Le tableau (1) représente la liste des antibiotiques à tester.

Tableau1 : Liste standard des antibiotiques à tester.

	Ciprofloxacine	CIP
Liste standard des antibiotiques à tester pour <i>P. aeruginosa</i> et les autres espèces non-entérobactéries	<i>Imipenème</i>	IPM
	<i>Piperacillin 75</i>	PRL
	<i>Tobramycine</i>	TOB
	<i>Netilmicin 30</i>	NET
	<i>Sulphamethoxazole /trimethoprim</i>	SXT
	<i>Gentamicine</i>	GEN
	<i>Piperacillin/tazobactam 85</i>	TZP
	<i>Amoxicilline + Ac clavulanique</i>	AMC
	<i>Céftazidime</i>	CAZ
	<i>Ticarcilline/ Ac clavulanique85</i>	TIM
	<i>Trimethoprim 5</i>	W
	<i>Ticarcilline 75</i>	TIC
	<i>Gentamicine</i>	GEN 500
	<i>Sulphamethoxazole /trimethoprim</i>	SXT 25
	<i>Tobramycine</i>	TOB10
	<i>Céfotaxine</i>	CTX 30
Liste des antibiotiques à tester pour Les entérobactéries	<i>Amikacine</i>	AK 30
	<i>Amoxicilline + Ac clavulanique</i>	AMC 30
	<i>Céftazidime</i>	CAZ 30
	<i>Céfalothine</i>	KF 30
	<i>Amoxicilline</i>	AML 25
	<i>Nitrofuranes</i>	F 50
	<i>Ceftriaxone</i>	CRO 30
	<i>Acide Nalidixique</i>	NA 30
	<i>Ciprofloxacine</i>	CIP 5
	<i>Imipenème</i>	IPM 10

2.3 LECTURE ET INTERPRÉTATION

La lecture consiste à mesurer le diamètre des halots entourant les disques d'antibiotique et qui correspondent aux zones d'inhibition de la croissance et les comparer aux limites critiques conseillées par le Comité de l'Antibiogramme de l'Association Française de Microbiologie.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 L'IDENTIFICATION

24 souches ont été isolées à partir des eaux usées de bains maures. L'identification de ces isolats a mis en évidence la présence de 10 genres. La prédominance d'*Escherichia*, était remarquable avec une fréquence de 20% contre 16% pour *Enterobacter* et *Klebsiella*, 12% *Serratia* et *Pseudomonas*, 8% pour *Vibrio*, 4% pour *Alcaligenes* et *Ochrobactrum Burkholderia*, et pour *Proteus*.

3.1.1 IDENTIFICATION DES BACTERIES GRAM NEGATIF BACILLES ENTEROBACTERIACEAE

71% des souches isolées appartiennent au groupe des *enterobacteriaceae*. 5 genres ont été donc identifiés : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Proteus*, figure 1.

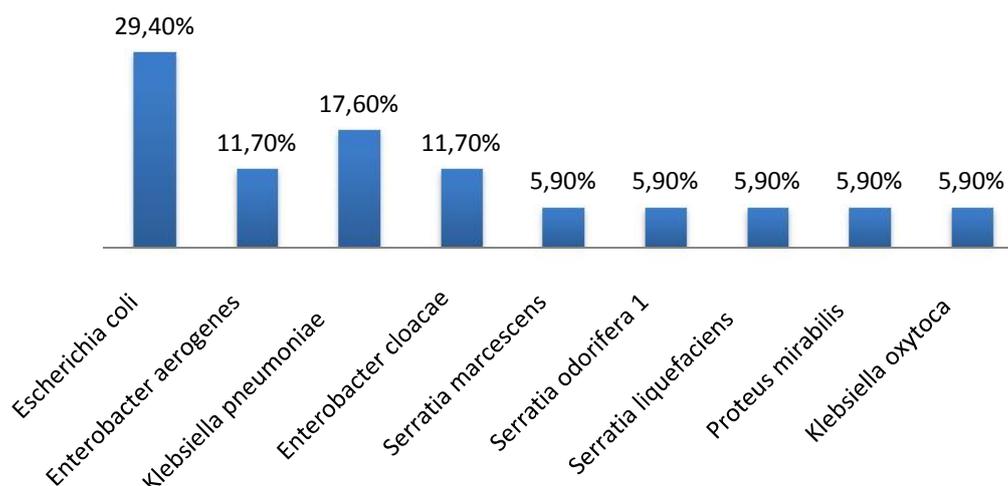


Fig. 1 : répartition des isolats d'entérobactéries

29% de ces genres isolés de la famille des *Enterobacteriaceae* sont des *Escherichia*, représentée essentiellement par une seule espèce : *Escherichia coli*. Cette bactérie est considérée comme un bon indicateur de la qualité des eaux. Leurs présences reflètent donc la présence possible de microorganismes pathogènes d'origine entérique. Les travaux de recherches menés par Makoutode et al (1999) et (Cyriaque Degbey et al (2011) ont confirmés la présence la contamination de l'eau de puits par les bactéries de l'espèce *E. coli*.

23% des *Enterobacteriaceae* isolées appartiennent au genre *Klebsiella*, dont 17% sont des *Klebsiella pneumoniae* et 6% des *Klebsiella oxytoca*. La présence de *Klebsiella* dans les eaux est connue comme un bon indicateur de contamination fécale. D'autres espèces du genre *Enterobacter* ont été isolées et identifiées dans les eaux collectées des bains maures, telles que *Enterobacter aerogenes* et *Enterobacter cloacae*, 18% des espèces du genre *serratia* telles que *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera* et *Serratia liquefaciens* et 6% des espèces du genre *proteus* à savoir *Proteus mirabilis*.

Il reste à noter que sans traitement préalable, La présence de ces bactéries dans les eaux de puits destinées à l'approvisionnement des bains maures représente un danger probable à la santé du consommateur. En quantité importante ces bactéries peuvent causer des dégâts considérables au profit de la vie de l'homme

3.1.2 IDENTIFICATION DES BACTERIES GRAM NEGATIF BACILLES NON-ENTEROBACTERIACEAE

L'analyse des eaux collectées a permis d'identifier 8 souches gram négatifs (gram-) *bacillus non enterobacteriaceae* réparties en 5 genres dont 37,5% sont des *pseudomonas*, 25% des *vibrio* et 12,5% des *Burkholderia*, *Alcaligenes* et *Ochrobactrum*.

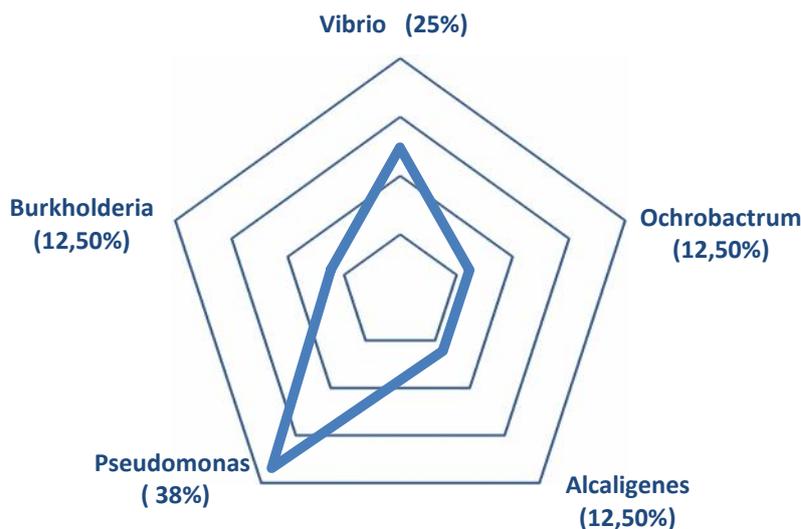


Fig.2 : Répartition des isolats de groupe non entérobactéries

En outre, 75% des isolats de *Pseudomonas* appartiennent à l'espèce de *Pseudomonas aeruginosa*, 25% à l'espèce *Pseudomonas testosteroni* (*Comamonas testosteroni*). D'autres espèces ont été identifiées sur nos échantillons. En effet, l'espèce *Vibrio vulnificus* du genre *Vibrio* a été révélée comme la deuxième espèce abondante après *P. aeruginosa*. Cependant, le reste des espèces identifiées existent en quantité faible dans les échantillons analysés à savoir *Alcaligenes faecalis* et *Burkholderia cepacia*. La dernière espèce qui a été identifiée dans nos échantillons est *Ochrobactrum anthropi*.

3.2 PROFIL DE RESISTANCE DES SOUCHES GRAM NEGATIFS

3.2.1 PROFIL DE RÉSISTANCE DES SOUCHES GRAM NÉGATIFS ENTEROBACTERIACEAE- AUX ANTIBIOTIQUES.

Les résultats de la résistance aux antibiotiques sont présentés dans la figure (3). Toutes les espèces se sont montrées sensibles à l'*Imipénème* *Gentamicine*. Les souches d'*E. coli* ont montré une résistance presque totale vis-à-vis aux *Tobramycine*, *Céftazidime* et l'*acide Nalidixique*. une résistance importante allant de 50% aux *Céfotaxime*, *Amikacine*, *Amoxicilline + Ac clavulanique*, *Amoxicilline* et *Céfotaxime* à 75% aux *Céfalotine*. Ainsi, tous les isolats d'*E. coli* ont montré une sensibilité totale aux *Ciprofloxacine*, *Sulphamethoxazole +Triméthoprim* et *Nitrofuranes*. En 2006 Baylis, et al, ont montré que *E. coli* peut être aussi résistante aux *bêta-lactamines*, l'*acide Nalidixique*, et l'*ampicilline*, et sensible à la *nitrofurantoïne*. Le mécanisme de résistance aux antibiotiques chez les isolats d'*E. coli* est lié à la production de β -lactamase à spectre étendue (BLSE).

Les souches d'*Enterobacter* ont montré une résistance parfaite aux *Tobramycine*, *Céftazidime* *Céfalotine*, *Amoxicilline* et aux *Amikacine*, *Amoxicilline + Ac clavulanique*, *Nitrofuranes* et *Céfotaxime*. Cette résistance atteint 50% aux *Céfotaxime*; et 25% aux *Sulphamethoxazole +Triméthoprim*, *Ceftriaxone* et *Acide Nalidixique*. En plus de l'*imipénème* tous les isolats d'*Enterobacter* ont montré une sensibilité totale aux *Ciprofloxacine* et *Gentamicine*. Des chercheurs ont montré que les espèces du genre *Enterobacter* sont résistantes à l'*ampicilline*, aux *céphalosporines* de première et de deuxième génération (Farmer et al 2007 et Russo, T. A. et al 2008). En 2004, Boyce et al., ont signalé que la majorité des espèces du genre *Enterobacter* sont sensibles aux *fluoroquinolones* et au *triméthoprim-sulfaméthoxazole*.

Le mécanisme de résistance aux antibiotiques chez certains isolats d'*Enterobacter* est dû essentiellement à la production des BLSE ((David.2006 et Holy et al. 2008).

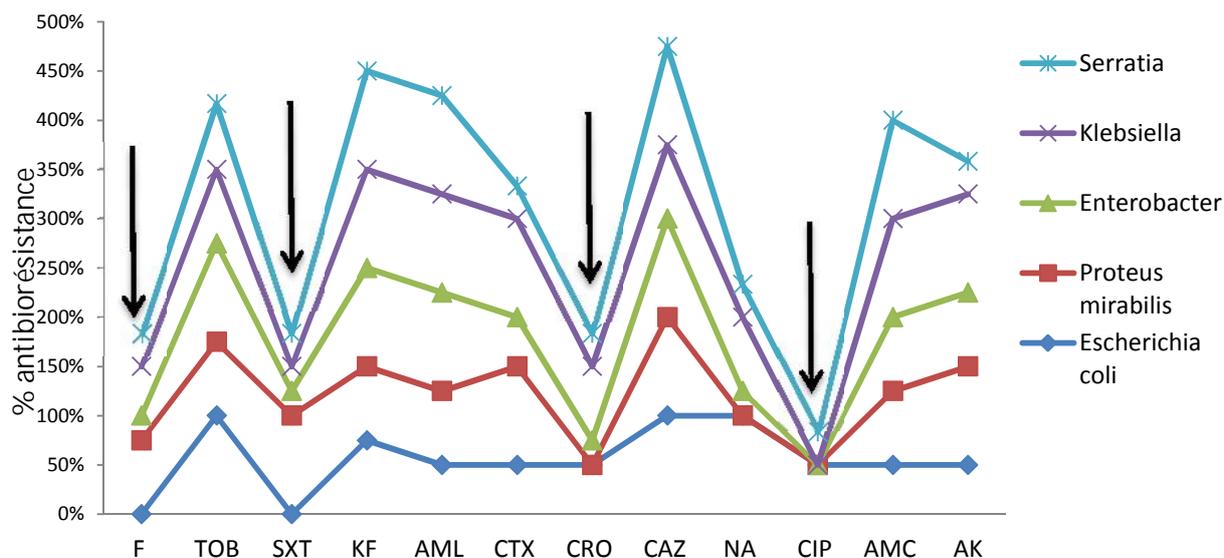


Fig.3 : profil de l'antibiorésistance des souches d'Enterobacteriaceae isolés des bains maures

Les isolats des *Klebsiella* ont montré une résistance totale aux Céfotaxime, Amikacine, Amoxicilline + Ac clavulanique, Céfalocone et Amoxicilline ; et un taux de résistance jusqu'à 75% pour : Tobramycine, Céftazidime, Ceftriaxone et Acide Nalidixique. Mais aussi, tous isolats des *Klebsiella* sont sensibles au Ciprofloxacine. En (2006) Janda et al. ont montré que le genre *Klebsiella* présente une résistance aux pénicillines, en particulier l'ampicilline (Janda et al 2006). Plusieurs recherches ont montré que le mécanisme de résistance aux antibiotiques chez les isolats de *Klebsiella* est lié à la production de β -lactamase (BLSE) (Bradford, 2001 et Bonnet, 2004).

Les isolats des *Serratia* montrent une résistance totale aux Céftazidime, Amoxicilline + Ac clavulanique, Céfalocone et Amoxicilline, 66, 7% aux à Tobramycine et 33% aux Sulphaméthoxazole +Triméthoprim, Céfotaxime, Amikacine, Nitrofuranes, Ceftriaxone, ciprofloxacine et Acide Nalidixique. En Australie(2009), Engel et al ont montré que les espèces de *Serratia* sont habituellement sensibles aux aminosides, aux fluoroquinolones, De nombreux isolats de *Serratia* spp. (39-73 %) sont résistants aux pénicillines et à la céphalosporine (Engel et al, 2009).

Les isolats des *Proteus* se sont montrés totalement résistants aux Sulphaméthoxazole +Triméthoprim, Céfotaxime, Amikacine et Céftazidime et 75% aux Tobramycine, Amoxicilline + Ac clavulanique, Nitrofuranes Céfalocone et Amoxicilline. Mais, une sensibilité totale aux Ceftriaxone, Acide Nalidixique, ciprofloxacine.

Abbott, et al. en (2009) ont montré que les espèces du genre *Proteus* sont généralement sensibles aux céphalosporines, aux aminoglycosides et à l'imipénème à large spectre. D'autre recherche confirment qu'une résistance aux β -lactamases émerge actuellement chez les bactéries du genre *Proteus* (Coker, C. et al, 2000). L'espèce *P. mirabilis* est résistante à la nitrofurantoïne, et elle peut aussi développer une résistance à la ciprofloxacine lorsque cet antibiotique n'est pas soumis à des restrictions d'utilisation.

3.2.2 PROFIL DE RESISTANCE DES SOUCHES GRAM NEGATIFS-NON ENTEROBACTERIACEAE- AUX ANTIBIOTIQUES

Les résultats de la résistance aux antibiotiques des isolats Gram négatifs non Enterobacteriaceae sont illustrés sur la figure (4). Toutes les espèces étudiées montrent une sensibilité totale à l'imipénème et une résistance totale aux Ticarcilline(TIC), Piperacilline + tazobactam (TZP), Amoxicilline + Ac clavulanique (AMC), Céftazidime(CAZ), Ticarcilline + Ac clavulanique(TIM), et Triméthoprim(W).

Les souches de *Pseudomonas* montrent une résistance totale aux Gentamicine et Sulphaméthoxazole + triméthoprim et 25% de ces isolats se révèlent résistante à Netilmicin. En revanche, les souches de *Pseudomonas* ont montré une sensibilité totale aux Piperacilline. Tobramycine et Ciprofloxacine. Nos résultats sont presque comparable avec les résultats de Abdelmoula El Ouardi et al (2013), qui ont montrés une sensibilité à l'imipénème jusqu'à (88%), à la pipéracilline (78%), à la Tobramycine (76%); à Ciprofloxacine (66%), à la Nétilmicine (74%), la résistance à la Ticarcilline était très élevée. En effet, *P.*

aeruginosa toujours été considéré comme une cible difficile en chimiothérapie anti-infectieuse. La séquence complète de son génome a permis de rationaliser cette observation car (i) 0.3 % des gènes sont directement impliqués dans les mécanismes de résistance; (ii) elle est capable d'acquérir des grands éléments mobiles (intégrons) codant pour des mécanismes de résistance provenant d'autres bactéries (Stover C.K. et al., 2000 ; Woods D.E. 2004 et Kipnis E. et al., 2006).

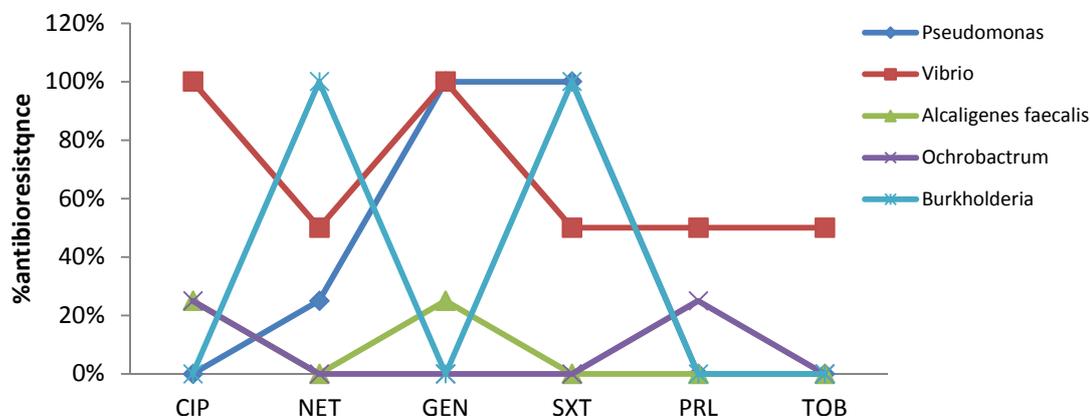


Fig.4 : profil de l'antibiorésistance des souches non Enterobacteriaceae isolés des bains maures

Contrairement à ce qui a été décrit par Elourdi (2013), nos souches se sont montrées très résistantes aux antibiotiques. Par contre, ces souches développent une sensibilité très importante aux antibiotiques suivants : 82% pour *pipéracilline-tazobactam*, (67%) pour *ticarcilline-acide clavulanique*, (76%) *Céftazidime(CAZ)* et (71%) *gentamicine*.

Les isolats des *Vibrio* ont montré une résistance totale aux *Ciprofloxacine* et *Gentamicine*, et un taux de résistance jusqu'à 50% pour *Piperacillin*, *Tobramycine*, *Netilmicin* et *Sulphamethoxazole + triméthoprime*. Duval et al en 1999 ont pu identifier un nouvel antibiotype résistant au *triméthoprime + sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)*, *sulfonamides* et *triméthoprime*. En 2001, Rakoto Alson et al. ont observé l'apparition d'un phénotype résistant aux Bétalactamines type pénicillinase de bas niveau (résistance à l'ampicilline, à l'amoxicilline, à la ticarcilline avec sensibilité conservée à l'association amoxicilline/acide clavulanique et à la Céfalotine), et d'une résistance croisée entre toutes les cyclines (Rakoto Alson et al, 2001). Le principal mécanisme de résistance aux sulfamides se situe au niveau d'une enzyme inactivatrice : la dihydroptéroate synthétase (DHPS) (Glass RI, et al 1980).

Les souches de *Burkholderia cepacia* ont montré une résistance totale aux *Netilmicin* et aux *Sulphamethoxazole + triméthoprime*, et une sensibilité totale aux *Gentamicine*, *Ciprofloxacine*, *pipéracilline* et *Tobramycine*. En 1999, Bonacorsi et al. ont montré que parmi les *bêta-lactamines* les plus actifs, la *pipéracilline* et que la *ciprofloxacine* est assez rarement active. *Burkholderia cepacia* présente un niveau de résistance intrinsèque assez important contre les *β -lactamines*, *aminosides* et *fluoroquinolones*. Ceci est partiellement dû à la présence de différentes pompes MDR comme *SmeABC*, *CeoAB-OpcM*, *AmrAB-OprA* ou *BpeAB-OprB* (Cattoir, 2004).

En plus de la résistance totale à des antibiotiques énumérés ci-dessus *Ochrobactrum anthropi* a montré une résistance de 25% aux *Piperacillin* et *Ciprofloxacine*. *Ochrobactrum anthropi* est résistante à la plus part des céphalosporines et des pénicillines, cette résistance est due à l'expression d'une enzyme résistante à l'acide clavulanique, la *β -lactamase*. Elle est inducible de type AmpC, en hydrolysant les céphalosporines. L'expression du gène AmpC est inducible via un régulateur AmpR (Higgins, 2001).

Alcaligenes faecalis à elle aussi développe une résistance faible de 25% aux *Ciprofloxacine* et *Gentamicine* plus la résistance aux antibiotiques énumérés ci-dessus, et une sensibilité aux *Netilmicin*, *Sulphamethoxazole + Triméthoprime*, *pipéracilline* et *Tobramycine*. En (1993), Bizet C, et al. ont montré que la plupart des souches semblent afficher une résistance multiple à de nombreux antibiotiques, y compris les *β -lactamines* (*l'amoxicilline*, *ticarcilline* et *aztréonam*), les *aminosides* et les *quinolones*, mais étaient sensibles à des combinaisons de *l'amoxicilline* ou *ticarcilline* et d'*acide clavulanique* et à la *cephalosporins*. La seule *β -lactamase* à spectre étendu (BLSE) décrit dans *A. faecalis* était PAR-1, une enzyme précédemment trouvée dans les *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* et *Acinetobacter* (Pereira M, et al 2000). Arpin C, et al, en 2003 ont rapporté un type TEM BLSE, fréquemment rencontrées chez les entérobactéries dans la région de Bordeaux.

4 CONCLUSION

La présente étude sur l'isolement et l'identification de certaines bactéries, nous a permis de dresser un profil de souches qui peuvent exister dans les eaux utilisées après la baignade dans des salles de bains maure. Ces germes peuvent menacer la santé des consommateurs, surtout les enfants et ceux qui souffre déjà de maladies immunes. De nombreuses études sur les bains maures ont été menées dans ce sens à travers les différentes régions du royaume. Les résultats des recherches établies montrent une grande diversité des espèces bactériennes isolées de ces bains maures. Les tests phénotypiques de résistance et sensibilité de ces germes aux différents antibiotiques choisis, montrent un polymorphisme assez important.

Par ailleurs, la RAM, source de préoccupations pour l'ensemble de la collectivité met aux points et dans ses priorités une stratégie efficace de lutte contre ce problème majeur de santé public. La présence de souches bactériennes causant des maladies graves résistantes aux antibiotiques, il est donc important de chercher des alternatives sûres, efficaces et naturelles.

REFERENCES

- [1] Abbott, S. L. 2007. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae*. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 698-715). Washington, DC: ASM press.
- [2] Arpin C, Dubois V, Coulange L et al. Extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community and private health care centers. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3506–14.
- [3] Baylis, C. L., Penn, C. W., Thielman, N. M., Guerrant, R. L., Jenkins, C., & Gillespie, S. H. 2006. *Escherichia coli* and *Shigella* spp. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 347-365). England, UK : John Wiley and Sons Ltd
- [4] Blandine Pulchérie TAMATCHO KWEYANG , Pierre René FOTSING KWETCHE, Thomas NJINE, Moïse NOLA, Patrick DJOGO. 2009. Quelques facteurs déterminant la distribution des bactéries du genre *Vibrio* dans l'environnement aquatique de Yaoundé, Cameroun., *Cameroon Journal of Experimental Biology* 2009 Vol. 05 N°02, 96-103.
- [5] Bizet C, Tekaia F, Philippon A. In-vitro susceptibility of *Alcaligenes faecalis* compared with those of other *Alcaligenes* spp. to antimicrobial agents including seven b-lactams. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 907–10.
- [6] Bonnet R., 2004. Growing group of extended spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agent chemother*, 48: 1-4.
- [7] Boyce, T. G., Gruber, W. C., & Fisher, R. G. 2004. *Enterobacter*. In R. D. Feigin, Cherry, Demmler & Kaplan (Eds.), *Textbook of pediatric infectious diseases* (5th ed., pp. 1427- 1431). PA, USA: Saunders.
- [8] Bradford PA. 2001. Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbial. Rev*, 4:933-935.
- [9] Bonacorsi S, Fitoussi F, Lhopital S, Bingen E. Comparative in vitro activities of meropenem, imipenem, temocillin, piperacillin, and ceftazidime in combination with tobramycin, rifampin, or ciprofloxacin against *Burkholderia cepacia* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 ; 43 : 213-7.
- [10] David, L.P., 2006. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae, *A.J.I.C*, 34:520-528.
- [11] Duval P, Champetier de Ribes G, Ranjalay J, Quilici ML, Fournier JM. Cholera in Madagascar. *Lancet* 1999; 353 : 2068. (Rakoto Alson et al, 2001).
- [12] K. Benouis, M. Benabderrahmane, D. Harrache-Chettouh et K. Benabdeli. 2008. Peut-on boire les eaux de bains maures « Hammam » ? : cas des bains de la ville de Sidi-Bel-Abbès. *Cahiers Santé* vol. 18, n° 2, avril-mai-juin.
- [13] Chrissanthy Papadopoulou et al. 2008. Microbiological quality of indoor and outdoor swimming pools in Greece: Investigation of the antibiotic resistance of the bacterial isolates. *Int. J. Hyg. Environ.-Health* 211: 385–397
- [14] Champs, C., C. Henquell, D. Guelon, D. Sirot, N. Gazuy, and J. Sirot. 1993. Clinical and bacteriological study of nosocomial infections due to *Enterobacter aerogenes* resistant to imipenem. *J. Clin. Microbiol.* 31:123-127
- [15] Clinical and laboratory standards Institute CLSI 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility test-approved standard (document M100-S9). 8th ed. Wayne, PA
- [16] Cyriaque Degbey, Michel Makoutode, Victoire Agueh, Michele Dramaix, Christophe de Brouwer , Facteurs associés à la qualité de l'eau de puits et prévalence des maladies hydriques dans la commune d'Abomey-Calavi (Bénin), *Sante*, vol. 21, n81, janvier-février-mars 2011
- [17] Cattoir Vincent, 2004. Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*. 52 (10): 607-616.

- [18] Coker C., Poore, C. A., Li, X., & Mobley H. L. 2000. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 2(12), 1497-1505.
- [19] Abdelmoula El Ouardi, Samira Senouci, Fatima El Habib and 2My Mustapha Ennaji. 201). *Pseudomonas Aeruginosa* in Water of Hamam or Turkish Bath: Serotyping and Antibiotic Susceptibility. *Middle-East Journal of Scientific Research* 15 (4): 487-492, 2013
- [20] Engel, H. J., Collignon, P. J., Whiting, P. T., & Kennedy, K. J. 2009. *Serratia* sp. bacteremia in Canberra, Australia : a population-based study over 10 years. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28(7), 821-824.
- [21] Ehrhardt AF, Sanders CC, Thomson K, Watanakunakorn SC, Trujillo-Martin I. 1993. Emergence of resistance to imipenem in *Enterobacter* isolates masquerading as *Klebsiella pneumoniae* during therapy with imipenem. *Clin. Infect. Dis*, 17: 120-122
- [22] Farmer J. J., Boatwright K. D., & Janda J. M. 2007. *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical microbiology* (9th ed., pp. 649-669). Washington, DC, USA: ASM press.
- [23] Glass RI, Huq I, Alim AR, Yumus M. Emergence of multiply antibiotic-resistant *Vibrio cholerae* in Bangladesh. *J infect Dis* 1980; 142 : 939-942.
- [24] Holy M.A., Lin M., Abu-ghoush M.M., Al-Qadiri H.M., Rasco B.A., 2008. Thermal resistance, survival and inactivation of *Enterobacter sakazakii* in powdered and reconstituted infant formula. *J.Food Safety*, 29: 287-301.
- [25] Pereira M, Perilli M, Mantengoli E et al. PER-1 extended-spectrum β -lactamase production in an *Alcaligenes faecalis* clinical isolate resistant to expanded-spectrum cephalosporins and monobactams from a hospital in Northern Italy. *Microb Drug Resist* 2000; 6: 85-90.
- [26] Higgins CS, Murtough SM, Williamson E, Hiom SJ, Payne DJ, Russell AD, et al. Resistance to antibiotics and biocides among nonfermenting Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect* 2001;7: 308-15.
- [27] Janda, J. M., & Abbott, S. L. 2006. The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. *The Enterobacteria* (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press.
- [28] Kipnis E, Sawa T, Wiener-Kronish J. 2004. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Med Mal Infect*. 2006; 36: 78-91.
- [29] Laraoui C.E., Caubet A. et Benghalem A., 2000. Hygiène, conditions de travail et risques professionnels dans les bains maures « Hammams » à Marrakech. *Sante*. 10 : 19-26.
- [30] M. Makoutode, A.K. Assani, E-M. Ouendo, V. D. Agueh, P. Diallo .1999, *Qualite Et Mode De Gestion De L'eau De Puits En Milieu Rural Au Benin : cas de la sous-préfecture de Grand-Popo*, *Médecine d'Afrique Noire* : 46 (11)
- [31] Nordmann Patrice., Poirel Laurent., Rodriguez-Martinez José-Manuel., Plésiat Patrick., 2009. Naturally Occurring Class A β -Lactamases from the *Burkholderia cepacia* Complex. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(3): 876-882.
- [32] O.M.S. 2006. Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease. Available http://www.who.int/quantifying_ehimpacts/publications/preventingdisease.pdf
- [33] Russo, T. A., & Johnson, J. R. 2008. Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), *Harrison's principles of internal medicine* (17th ed.,). New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division. Retrieved from online.statref.com/document.aspx?FxlId=55&DocID=1&grpalias=
- [34] Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrener P, Hickey MJ, Brinkman FS. 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Natur*; 406: 959-964.