



Evaluation de la contamination des eaux utilisées en milieu hospitalier : Effets d'antibiotiques et de désinfectant usuels sur les germes isolés (Surveillance of bacteriological quality and resistance to disinfectants and antibiotics in a provincial hospital in Morocco)

H. Bekkari^{1*}, H. Touijer^{1,2}, S. Berrada², M. Ettaybi¹, N. Benchemsi⁴,
S. Maniar⁵, A. El Ouali Lalami^{2,3}

¹ Laboratoire de Biotechnologie, Faculté des Sciences Dhar EL Mahraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès 30000, Maroc.

² Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu, Direction Régionale de la Santé, Hôpital EL Ghassani, Fès 30000, Maroc.

³ Institut Supérieur des Professions Infirmières et Techniques de Santé (Annexe de Meknès), Direction Régionale de la Santé, Hôpital El Ghassani, Fès 30000, Maroc.

⁴ Laboratoire d'Ecologie fonctionnelle et environnement, Faculté des sciences et techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès 30000, Maroc.

⁵ Observatoire Régional de la Santé, Direction Régionale de la Santé, Hôpital El Ghassani, Fès 30000, Maroc.

* : Auteur correspondant, E-mail: hicham.bekkari@usmba.ac.ma

Abstract

Inefficient disinfection of the water distribution system and cross-contamination may result in the occurrence of microorganisms in hospital clean waters. Such microorganisms can be pathogenic and may contaminate hospital devices and materials, and therefore pose a risk for the nursing body and hospitalized patients health. As part of actions to prevent nosocomial infections, we monitored different types of water used during a four-month period at eight services in a hospital in the city of Fez. The main objectives were to assess the microbial water quality, to evaluate the effectiveness of the disinfection applied to the water distribution channels as well as the sensitivity of isolated bacteria to antibiotics and disinfectants. Microbial analysis of water from different sources exceeded the acceptability limits of recommended standards. The bacterial species found in water include *Lactobacillus*, *Bacillus sp.*, *Aeromonas salmonicida*, BNONf, coagulase negative *Staphylococcus*, *Pasteurella haemolytica*, *Acinitobacter sp* BNOP, *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus sp.* This shows that some of these may cause nosocomial infections. The disinfectant used in pure form in this hospital was effective against certain bacterial strains such as *Aeromonas hydrophila*, coagulase-negative *Staphylococcus*, *Streptococcus sp* and *Bacillus sp.* However, no effect was seen against *Pasteurella haemolytica* and *Lactobacillus*. Furthermore, all the tested bacteria were resistant to diluted disinfectant. *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus sp* strains showed resistance to most antibiotics investigated at the exception of ofloxacin and amikacin. In addition, *Aeromonas hydrophila* was found to be sensitive to Chloramphenicol.

Keywords: Water, Microbiological analysis, Disinfectant, Antibiotics, Nosocomial Infections, Hospital, Fez, Morocco.

Résumé

Les microorganismes présents dans l'eau de l'hôpital, peuvent résulter de l'inefficacité de la désinfection du circuit de distribution ou/et d'une contamination croisée. Ils sont généralement pathogènes et sont considérés comme des facteurs de risque susceptibles de contaminer les dispositifs et matériel utilisés, et de nuire à la santé du corps soignant et des patients hospitalisés. Dans le cadre de la prévention des infections nosocomiales en milieu hospitalier, nous avons mené une surveillance des différents types d'eau utilisées, durant une période de quatre mois au niveau de huit services d'un hôpital de la ville de Fès. Les principaux objectifs de cette étude étaient d'évaluer la qualité microbiologique des eaux, d'apprécier l'efficacité de la désinfection appliquée au

circuit de distribution et la sensibilité des germes isolés vis-à-vis d'antibiotiques et de désinfectant usuels sur les germes isolés. Pour l'évaluation microbiologique de l'eau, nous avons procédé d'abord par une filtration sur membrane, puis par un dénombrement suivi d'une identification des germes isolés. L'effet du désinfectant à base de chlore, utilisé dans ce milieu hospitalier, a été étudié par la technique de macrométhode. La sensibilité des germes isolés de l'eau vis-à-vis des antibiotiques, Ampicilline, Lincomycine, Oxacilline, Tobramycine, Chloramphénicol, Triméthoprime-sulphatométhaxime, Amikacine, Tétracycline, Ofloxacin et Céfotaxime, a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose. L'analyse microbienne des différents types d'eau a révélé un dépassement des limites d'acceptabilité préconisées par les normes en vigueur des germes totaux et l'existence de souches bactériennes telles que *Lactobacillus*, *Bacillus sp.*, *Aeromonas salmonicida*, BNONf, *Staphylococcus* à coagulase négative, *Pasteurella haemolytica*, *Acinetobacter sp.*, BNOP, *Aeromonas hydrophila*, *Streptocoque sp.* Parmi ces souches, certaines présentent un risque d'infection nosocomiale majeur. Le désinfectant utilisé à l'état pur a été efficace contre certains germes, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus* à coagulase négative, *Streptocoque sp.*, et *Bacillus sp.*, mais sans effet contre les germes de *Pasteurella haemolytica* et de *Lactobacillus*. Cependant, tous les germes testés ont été résistants lorsque le désinfectant a été dilué. Les souches *Aeromonas hydrophila* et *Streptocoques sp.* ont montré une résistance à la plupart des antibiotiques étudiés sauf à l'Ofloxacin et à l'Amikacine. *Aeromonas hydrophila* a été sensible au Chloramphénicol.

Mots clés : Eaux, Evaluation microbiologique, Désinfectant, Antibiotiques, Infections Nosocomiales, Hôpital, Fès - Maroc.

1. Introduction

L'eau est un élément essentiel à la vie sur terre [1], elle est à la source de nombreuses activités humaines [2]. L'usage de l'eau en milieu hospitalier est très varié : alimentaire, sanitaire et médical. L'eau, que ce soit en milieu communautaire ou hospitalier, pouvait être contaminée par de nombreuses bactéries multirésistantes [3], Elle serait un vecteur privilégié de nombreuses pathologies d'origine bactérienne, pouvant ainsi engendrer des infections chez des patients fragilisés ou immunodéprimés [4]. A l'échelle mondiale, 4% de décès et 5,7% de la charge de morbidité sont causées par des maladies infectieuses d'origine hydrique [5]. Les bactéries telles que les cyanobactéries, *Legionella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Burkholderia pseudomallei*, peuvent séjourner dans l'eau et s'adapter à toutes les conditions physicochimiques du milieu avant toute contamination [6-8].

Les bactéries peuvent acquérir une résistance de plus en plus importante aux désinfectants, à chaque fois qu'ils sont utilisés avec le même produit et avec la même concentration [9-11].

En plus de la résistance aux désinfectants, ces micro-organismes pourraient développer également une résistance aux antibiotiques et engendrer ainsi des risques d'infections nosocomiales [12].

C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail qui a pour objectif l'évaluation de la contamination des eaux utilisées en milieu hospitalier ainsi que l'étude de l'effet des désinfectants et des antibiotiques usuels sur les germes isolés.

2. Matériel et méthodes

2.1. Type et période de l'étude

Une étude prospective a été réalisée sur une durée de 4 mois, allant du 01 mars au 30 juin 2014, dans un hôpital public à vocation provinciale de la ville de Fès.

2.2. Lieu des prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés au sein de sept services hospitaliers: Néonatalogie, Traumatologie, Bloc centrale, Bloc des urgences, Chirurgie, Cuisine et service de Réanimation.

2.3. Mode de prélèvement

Les prélèvements d'eaux (eau de réseau, eau distillée et eau stérile) ont été réalisés dans des flacons stériles de capacité d'environ 500 ml selon les Normes Marocaines NM 03.7.058 et NM 03.7.059.

2.4. Conservation et transport des échantillons au laboratoire

Les échantillons prélevés ont été acheminés au laboratoire dans une glacière maintenue à 4°C pour être analysés.

2.5. Analyse des prélèvements

L'analyse bactériologique des eaux a été réalisée selon les méthodes présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Méthodes d'analyses bactériologiques des eaux

	Germes recherchés	Méthodes bactériologiques utilisées	Milieux utilisés	Critères d'interprétation en UFC	Temps d'incubation
Eaux d'alimentation humaine (Eau de réseau) NM.03.07.001	Germes totaux (22°)	Ensemencement en profondeur	G. Extrait de levure	>100/ml (22°C)	72H
	Germes totaux (37°C)			>20/ml (37°C)	48H
	Coliformes totaux (36±2°C)	Filtration sur membrane de nitrocellulose 0,45µm	Tergitol- TTC	0/100ml	24 à 48H
	<i>E. coli</i> (44±0,5°C)			0/100ml	
	Entérocoques intestinaux (36±2°C)			0/100ml	
	ASR (37°±1C)	Ensemencement sur milieu SPS 0,22µm	SPS Agar	0/100ml	

La lecture des résultats a été effectuée après la période d'incubation. Le dénombrement, l'aspect, la taille et la couleur des colonies ont été notées, puis une purification de chaque type de colonie a été réalisée par épuisement sur milieu PCA (Plate Count Agar).

L'identification des germes isolés a été réalisée par des tests biochimiques classiques et la galerie API (BioMérieux France) [13].

En absence de normes d'interprétation relatives aux eaux, distillé et stérile, nous avons jugé la conformité de ces eaux en se basant sur les normes d'interprétation des eaux d'alimentation humaine.

2.6. Effet de désinfectant sur les germes isolés

La sensibilité de certaines souches bactériennes isolées, vis-à-vis du désinfectant à base de chlore utilisé à l'hôpital, a été réalisée. La méthode utilisée est la technique en macrométhode [14].

La lecture des résultats a été basée sur l'aspect du milieu.

- Aspect clair du milieu → Sensibilité de la souche au désinfectant.
- Aspect trouble du milieu → Résistance de la souche au désinfectant.
-

2.7. Evaluation de la sensibilité des germes isolés aux antibiotiques

La sensibilité des germes isolés de l'eau vis-à-vis des antibiotiques, Ampicilline, Lincomycine, Oxacilline, Tobramycine, Chloramphénicol, Triméthoprime-sulphatométhaxime, Amikacine, Tétracycline, Ofloxacin et Céfotaxime, a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose [14].

Les résultats de l'antibiogramme ont été déterminés par la mesure du diamètre de l'auréole d'inhibition. L'interprétation des antibiogrammes a été faite selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2013.

3. Résultats et discussion

3.1. Répartition et dénombrement des germes isolés de l'eau de réseau

Les résultats des eaux de réseaux analysées (tableau 2) ont montré l'absence des anaérobies sulfite-réducteur. La flore mésophile aérobie totale à 36°C±2°C, a montré un dépassement des limites d'acceptabilité (>20 ufc/ml) dans tous les services sauf dans le service de réanimation où les germes totaux ne dépassent pas 14 ufc/ml. Le dénombrement des germes totaux à 22°C est inférieur à 100 ufc/ml dans tous les services.

Nous avons noté l'absence d'entérocoques intestinaux, Streptocoques fécaux, dans tous les services sauf au niveau du bloc central où ils étaient présents avec une concentration de 134 ufc/100ml. Les Coliformes totaux ont été présents dans le bloc central (178 ufc/100ml), le service de néonatalogie (140 ufc/100ml), service de chirurgie (37 ufc/100ml) et la réanimation (25 ufc/100ml). Ces valeurs restent largement supérieures aux limites d'acceptabilités préconisées par la norme NM 03.7.001 soit (0 ufc/100ml).

Le bloc des urgences et la cuisine ne présentent aucune contamination par les Coliformes totaux (0 ufc/100ml). On note l'absence d'*E.coli* dans tous les services.

Suite à l'identification biochimique des germes totaux, isolés dans l'eau de réseaux, nous avons mis en évidence la présence de *Lactobacillus* (22%), *Aeromonas salmonicida* et *Bacillus sp* (19% chacune), *BNONnf* (13%), *Staphylococcus* à coagulase négative (10%), *Acinetobacter sp*, *BNOP* et *Pasteurella haemolytica* (5% chacune), *Streptocoque sp* (2%) (Figure 1).

Une étude, effectuée sur des eaux potables provenant de différents hôpitaux en Inde, a montré la présence de bactéries pathogènes opportunistes telles que : *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* et coliformes [15]. En Hongrie, une étude [16] sur la détection de bactéries potentiellement pathogènes dans le système de distribution d'eau potable en milieu hospitalier a montré la présence de plusieurs bactéries pathogènes opportunistes, telles que *Escherichia*, *Acinetobacter*, soulignant que les réseaux d'eau potable, pourrait être la source des infections nosocomiales.

Tableau 2 : Analyses microbiologiques des eaux de réseaux

Services	Germes totaux à 36°C±2°C (UFC/ml)	Germes totaux à 22±2°C (UFC/ml)	Coliformes Totaux (UFC/100ml)	Streptocoque fécaux (UFC/100ml)	ASR (UFC/100ml)
Néonatalogie	Incomptable	1	140	0	0
Traumatologie	Incomptable	0	3	0	0
Bloc d'urgence	220	0	0	0	0
Cuisine	100	67	0	0	0
Bloc central	34	54	178	134	0
Réanimation	14	28	25	0	0
Chirurgie	44	61	37	0	0
Critères d'interprétation en UFC (NM.03.07.001)	>20	>100	0	0	0

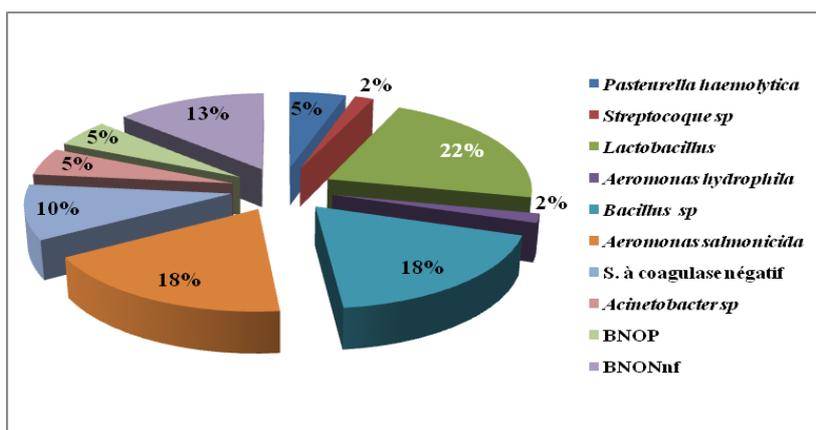


Figure 1 : Fréquence des germes isolés de l'eau de réseau

Pavan et coll., [15] ont aussi montré la présence, dans l'eau de réseaux, de souches d'*Acinetobacter junii* et d'*Acinetobacter calcoaceticus*.

La fréquence des germes isolés varie d'un service à l'autre et pourrait être favorisée par la présence de biofilms et l'adaptation des souches à diverses conditions [17]. Beaucaire G. et coll. [13], avaient noté que plusieurs infections nosocomiales d'origine hydrique ont été consécutives à la détection de biofilms formés par les microorganismes dans le réseau de distribution et dans les robinets des points d'usage de l'hôpital.

3.2. Répartition et dénombrement des germes isolés de l'eau distillée

Le dénombrement des germes isolés de l'eau distillée dans le service de néonatalogie a révélé la présence d'une flore mésophile aérobie totale à 36°C de 272 ufc/ml, et de 13 ufc/ml à 22°C. Dans le même service les coliformes totaux étaient de 14 ufc/100ml, les streptocoques fécaux, les ASR et l'*E. coli* étaient totalement absents (tableau 3).

Tableau 3 : Analyses microbiologiques de l'eau distillée

Service	Germes totaux à 22±2°C (UFC/ml)	Germes totaux à 36°C±2°C (UFC/ml)	Coliformes Totaux (UFC/100ml)	<i>E. Coli</i> (UFC /100ml)	Streptocoque fécaux (UFC/100ml)	ASR (UFC/100ml)
Néonatalogie	13	272	14	0	0	0
Critères d'interprétation en UFC(M.03.07.001)	>100	>20	0	0	0	0

L'identification biochimique des souches isolées de l'eau distillée a révélé une prédominance de *Lactobacillus* (29%). Les *Aeromonas salmonicida* représentent 19%, les *Bacillus sp* ainsi que les BNOP ont été présents à une fréquence de (14%) et les *streptocoques sp* à 9%. *Pasteurella haemolytica*, Staphylocoque à coagulase négative et les BNONnF sont les moins représentés (5 % chacune) (Figure 2).

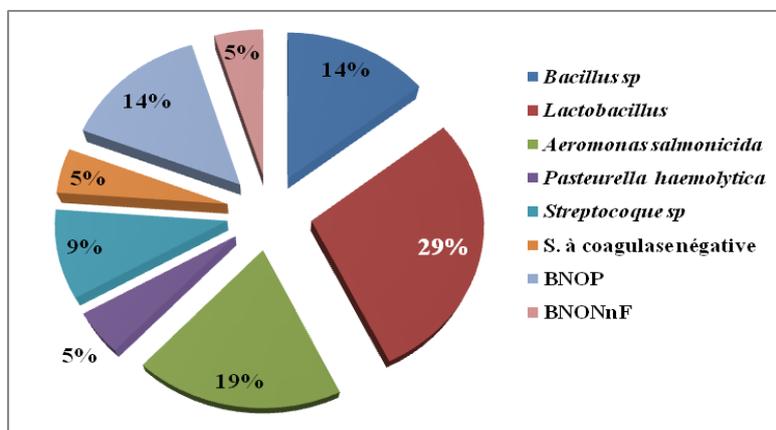


Figure 2 : Fréquence des germes isolés de l'eau distillée

3.3. Répartition et dénombrement des germes isolés de l'eau de stérile

Les analyses microbiologiques de l'eau stérile ont été réalisées dans le bloc central et le service de réanimation. La flore mésophile aérobie totale a été de 168 ufc/ml à 36°C et de 165 ufc/ml à 22°C, dans le service de réanimation. Dans le bloc central cette flore a été de 9 ufc/ml à 36°C et de 235 ufc/ml à 22°C. Les coliformes totaux étaient de 192 ufc/100ml dans le service de réanimation et 104 ufc/100ml dans le bloc central (tableau 4). Dans les deux services la contamination des eaux stériles analysées a montré un dépassement des limites d'acceptabilités préconisées par la norme NM 03.7.001.

Tableau 4 : Analyses microbiologiques de l'eau stérile

Service	Germes totaux à 22±2°C (UFC/ml)	Germes totaux à 36°C±2°C (UFC/ml)	Coliformes Totaux (UFC/100ml)	Streptocoque fécaux (UFC/100ml)	ASR (UFC/100ml)
Bloc central	235	9	104	0	0
Réanimation	165	168	192	0	0
Critères d'interprétation en UFC(M.03.07.001)	>100	>20	0	0	0

L'identification biochimique des germes, isolés de l'eau stérile, a montré que 30% des germes étaient des BNOP. *Lactobacillus*, *Aeromonas salmonicida* et BNONnF ont été trouvés à une même fréquence de 20% chacune. Alors que, les *Bacillus sp* représentent 10% de la flore totale (Figure 3).

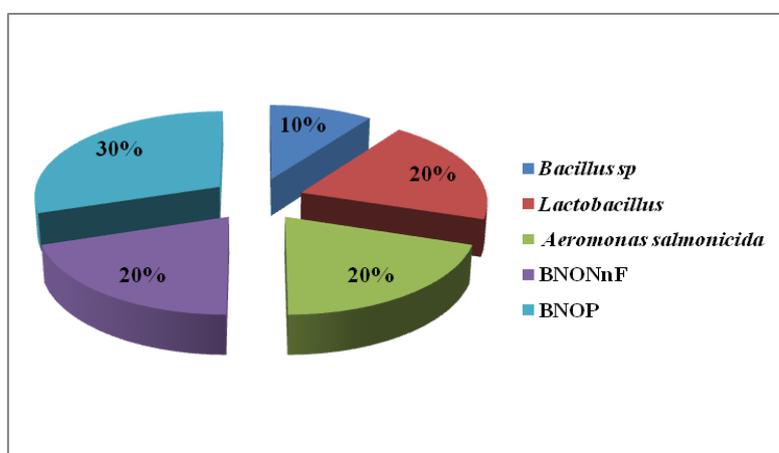


Figure 3 : Fréquence des germes isolés de l'eau stérile

Les infections nosocomiales sont un problème de santé public [18]. Dans les unités de soins, l'eau est utilisée pour usage médical [19], son contrôle microbiologique est indispensable, puisqu'il permet de s'assurer de sa bonne qualité et de sa conformité aux normes [20].

Ce contrôle a permis de révéler une contamination des eaux par des germes tels que *Bacillus sp*, *Staphylococcus* à coagulase négative, *Aeromonas salmonicida*, *Lactobacillus*, *Streptocoque sp*, *Aeromonas hydrophila*, *Pasteurella haemolytica*, *Acinitobacter sakazaki*, BNOP et BNONnF. La plupart de ces germes sont également isolés des surfaces et de l'environnement du milieu hospitalier, ils pourraient ainsi contaminer l'eau et être responsables d'infection nosocomiales graves [21].

La présence de ces types de germes dans le milieu hospitalier est généralement liée à plusieurs types d'infections, les *Aeromonas* sont responsables des gastro-entérites et des infections des plaies [22], les *Staphylococcus* sont impliquées essentiellement dans les infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines [23].

Avril JI. et coll., 2002 [24] ont rapporté également que la bactériémie est causée par les *Bacillus sp*, la Pasteurellose est responsable de l'infection par *pasteurella haemolytica*. D'autres travaux ont confirmé que le développement du rhumatisme articulaire est dû aux infections par *streptocoque sp* [24].

3.4. Effet de désinfectant sur les germes isolés

L'évaluation de la sensibilité des souches isolées à savoir : *Pasteurella haemolytica*, *Lactobacillus*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus* à coagulase négative, *Streptococcus* et *Bacillus sp* vis-à-vis d'un désinfectant à base de chlore a montré que, le désinfectant à l'état pur est inefficace sur les souches de *Pasteurella haemolytica* et de *Lactobacillus*, par contre il inhibe la croissance d'*Aeromonas hydrophila*, de *Streptocoques*, de *Bacillus sp* et de *Staphylocoque* à coagulase négative. Cependant, tous les germes testés ont été résistants lorsque le désinfectant a été dilué au 1/2 (tableau 5).

Tableau 5 : Effet de désinfectant sur les souches isolées

Souches \ Désinfectant	<i>Pasteurella haemolytica</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Streptocoques</i>	<i>Bacillus sp</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Staphylocoque</i> à coagulase négative
Pur	R	S	S	S	R	S
Dilué au 1/2	-	R	R	R	-	R

Les résultats ci-dessus, qui révèlent la sensibilité des souches de *Staphylococcus* à coagulase négative vis-à-vis d'un produit détergent à base de chlore, sont en accord avec les études faites par Rouillon et al., [25].

La rotation ou l'alternance des produits désinfectants pourrait être une alternative permettant de minimiser la pression de sélection sur les gènes de résistance.

3.5. Evaluation de la résistance aux antibiotiques

Le profil de résistance des souches d'*Aeromonas hydrophila* aux antibiotiques a montré qu'elles sont résistantes à la majorité des antibiotiques à savoir TE, SXT, OX, TOB, CTX, AMP et MY. Par contre, elles étaient trouvées toutes sensibles à l'AK, OFX et C (figure 4).

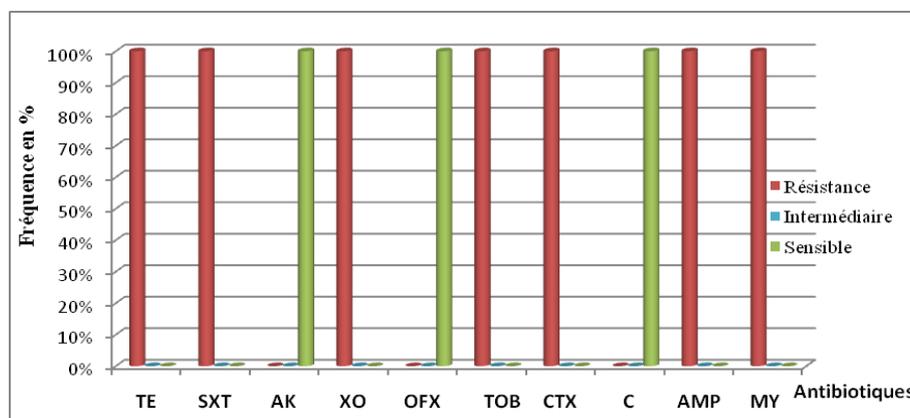


Figure 4 : Profil de résistance des souches d'*Aeromonas hydrophila* aux antibiotiques.

La figure 5 représente l'effet des antibiotiques usuels sur les souches de *Streptocoques sp.* Ces dernières étaient toutes résistantes aux TE, SXT, OX, TOB, CTX, AMP, MY, tandis qu'elles étaient sensibles à des degrés divers à : l'OFX (100%), l'AK et le C (50%).

Une étude sur la distribution des bactéries non-fermentaires Gram négatif (NFGNB) recueillies dans des sources d'eau provenant de différents services hospitaliers a montré que plus de la moitié des souches isolées étaient résistantes à un ou plusieurs antibiotiques testés [26]. Ceci confirme que l'environnement hospitalier est largement contaminé par des bactéries multi-résistantes [27].

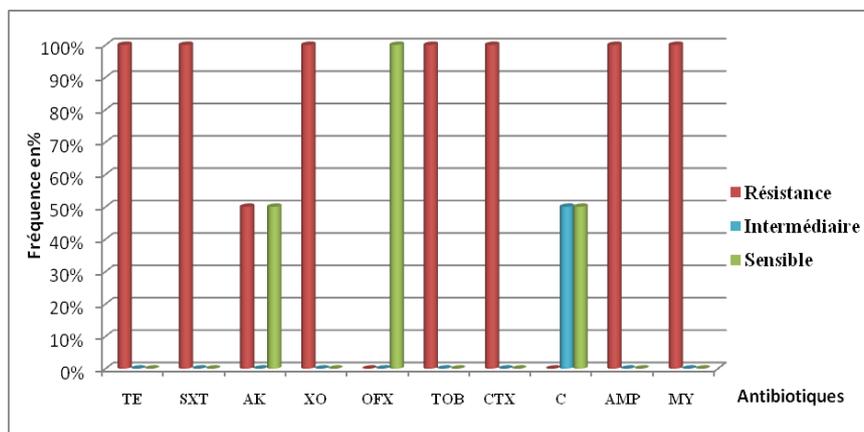


Figure 5 : Profil de résistance des souches *Streptocoques sp.* aux antibiotiques

Conclusion

Les analyses bactériologiques des eaux en milieu hospitaliers ont montré un niveau de contamination qui dépasse les limites d'acceptabilités préconisées par la norme NM03.7.001. Cette étude a mis en évidence la présence, dans les eaux analysées, d'une flore mésophile aérobie totale, d'entérocoques intestinaux (*Streptocoques fécaux*), et de Coliformes totaux dans la majorité des services hospitaliers.

L'identification des germes isolés a révélé la présence des bactéries d'origines hydrique, environnementale, humaine telles que, *Lactobacillus*, *Bacillus sp*, *Aeromonas salmonicida*, BNONnf, *Staphylococcus* à coagulase négative, *Pasteurella haemolytica*, *Acinetobacter sp*, BNOP, *Aeromonas hydrophila* et *Streptocoque sp*. Le taux d'isolement des ces germes varie entre les services et entre les types d'eau analysées ce qui constitue un risque potentiel pour les patients hospitalisés et le corps soignant. L'activité antibactérienne, des six souches isolées, vis-à-vis d'un désinfectant à base du chlore a montré que le désinfectant a été inefficace sur les souches de *Pasteurella haemolytica* et de *Lactobacillus*, lorsqu'il est utilisé à l'état pur. Ce même désinfectant s'est révélé inefficace sur toutes les souches lorsqu'il est employé à l'état dilué. Les souches *Aeromonas hydrophila* et *Streptocoque sp* ont montré une multi-résistance à la majorité d'antibiotiques usuels.

La surveillance microbiologique de l'eau utilisée dans l'hôpital est extrêmement importante afin de réduire au minimum l'exposition des patients immunodéprimés à une eau contaminée et prévenir les infections par conséquent des agents pathogènes multi résistants.

Remerciements : Nous remercions vivement tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, y compris le Directeur Régional de la Santé, le Délégué de la Santé, le Directeur de l'hôpital et les chefs des services impliqués dans cette étude.

Références

1. Qing Gu., Jinsong Deng., Ke Wang., Yi Lin., Jun Li., Muye Gan., Ligang Ma., Yang Hong., *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 11 (2014) 6069-6084. doi:10.3390/ijerph1106060696.
2. Vincent M., *Revue Francophone Des Laboratoires* (2014) 459.
3. Frederic Barbut A., Denis Neyme A., *Revue Francophone des Laboratoires*. (2006) 382.
4. Diduch M., Polkowska Z., Namieśnik J., *Food Control*. 61 (2016) 188-195.
5. Golberg A., Linshiz G., Kravets I., Stawski N., Hillson N J., Yarmush M L., Marks R S., Konry T., *Droplet Microfluidics for Bacteria Detection*. 9 (2014) 86341.
6. Pagnier I., Valles C., Raoult D., La Scol B., *Microbial Pathogenesis*. 80 (2015) 14-20.
7. Baudart J., Paniel N., 2014, *Revue Francophone Des Laboratoires*. (2014) 459.

8. Rodier J., Legube B., Merlet N., et Coll., 9e édition. Dunod, Paris, (2009): © GettyImages ISBN 978-2-10-054179-9.
9. Rolain J. M., Canton R., and Cornaglia G., *Clinical Microbiology and Infection* (2012).
10. Wessels S., Ingmer H. Regul. *Toxicol. Pharm.* 67 (2013) 456–467.
11. Meunier O., Meistermann C., Schwebel A., *Pathologie Biologie.* 57 (2009) 252-257.
12. Montiel A., *Revue Française des Laboratoires.* (2004) 364.
13. Beaucaire G., Cattoen C., Levent T., Prélèvements d'environnement dans les établissements de santé : Modes opératoires D:\travail\hygiène\hh128. (2001).
14. Rouillon S., Ourdanabia S., Jamart S., Hernandez C., Meunier O., *Pathologie Biologie.* 54 (2006) 325-330.
15. Pavan K. P., Raghuvver Yadav P., Shiva Shanker A.. *Bio Med Research International.* 2013, Article ID 348250, 10 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/348250>.
16. Felfoldi T., Heeger Z., Vargha M., Marialigeti K., *Clinical Microbiology and Infection*, 16 (2010) 89–92.
17. César de la Fuente-Núñez, Reffuveille F., Fernández L., and EW Hancock R., *Current Opinion in Microbiology.* 16 (2013) 580-589.
18. Cornejo-Juárez P., Vilar-Compte D., Pérez-Jiménez C., Ñamendys-Silva S.A. Sandoval-Hernández S., Volkow-Fernández P. *International Journal of Infectious Diseases.* (2015) 31-34.
19. Hartemann Blech M. et Simon L., Surveillance des infections nosocomiales. (1997).
20. Hartemann P., *EMC-Toxicologie Pathologie.* 1 (2004) 63–78.
21. El Ouali Lalami A., El-Akhal F., Oumokhtar B., *Int J Pharm Bio Sci.* 6(1) (2015) 977-983.
22. Monteil H. Harf-Monteil C., Institut de Bactériologie, Faculté de Médecine, Strasbourg, France, 26(37), 1761-1834.
23. Duce G. et coll., Guide pratique 2e édition WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12. (2002).
25. Avril JI., Dabernat H., *Bactériologies cliniques*, (2002) 186-270, 2^{ème} édition ellipses.
24. Rouillon S., Ourdanabia S., Jamart S., Hernandez C., Meunier O.. *Pathologie Biologie.* 54 (2006) 325-330.
25. Vincenti S., Quaranta G., De Meo C., Bruno S., Giovanna Ficarra M., Carovillano S, Ricciardi W., Laurenti P., *Science of the Total Environment.* 499 (2014) 47-54.
26. Mottier D., *Médecine et maladies infectieuses.* 38 (2008) 1-2.
27. Wright GD., *Current Opinion in Microbiology.* 13 (2010) 589-594.

(2016) ; <http://www.jmaterenvirosci.com>