

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



Université des 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 Professionnalisant
Filière : Sciences Biologiques.
Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière.

Par: BAADECHE Soundous Hibet Allah
EL HADEF EL OKKI Halima

Thème

Les infections nosocomiales à *Acinetobacter* au niveau du service de réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC).

Soutenu le 15/09/2020

Jury d'évaluation :

Président de jury : M^{me} ZITOUNI Hind (Maitre de conférences B – UFM Constantine).
Rapporteur : M^{me} HARZALLAH Besma (Maître de conférences B – UFM Constantine 1).
Examineur : M^{me} BENHAMDI Asma (Maître de conférences B – UFM Constantine 1).
Maître de stage : M^r RAMDANI Hakim (Maître-assistant en Microbiologie – HMRUC).

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons à présenter notre profond respect et notre reconnaissance à notre promotrice Mme Harzallah Bisma, Maitre de Conférences à l'Université des Frères Mentouri – Constantine 1, pour son encadrement fructueux, son suivi au cours de notre travail, pour les précieuses informations, conseils et moyens qu'elle a mis à notre disposition.

Nous remercions également notre maitre de stage Mr Ramdani Hakim, Maitre-Assistant en Microbiologie à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine, de nous avoir accueilli et co-encadré ce travail. On le remercie pour sa disponibilité et ses conseils pratiques qui nous ont beaucoup aidé et orienté durant notre stage.

Nous tenons à remercier profondément notre présidente de jury, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

À notre examinatrice pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous écouterons attentivement et recevrons toutes remarques éventuelles toujours enrichissantes.

On remercie Mr Kacem Chaouche N., chef du département de Biologie Appliquée qui nous a acceptées parmi ses étudiants en master.

Nous adressons nos vifs remerciements à tous le personnel du laboratoire de Microbiologie et du service de Réanimation pour toute l'aide qu'ils nous ont apportée lors de la réalisation de ce travail, en particulier : Mr Fakhr el dine, Mr Houssine, Mr Kamel, Mme Amina et Mme Amira.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'ils acceptent nos grands et sincères remerciements.

Halima et Soundous

Dédicaces

Le chemin qui mène au succès est semé d'embûches. Il peut parfois être tortueux et sinueux. C'est pourquoi, une fois à destination nous ne pourrions manquer de rendre hommage à ceux qui ont contribué d'une façon quelconque à rendre le voyage un peu plus agréable.

Du plus Profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

A mes chers parents « Kamel et Sakina Bechlem »

Qui ont fait de ma vie ce qu'elle est aujourd'hui. Aucun mot ne me paraît suffisant pour vous dire à quel point je vous en suis très reconnaissante, pour l'amour, la tendresse et le soutien que vous m'avez apporté tout au long de ma vie. Vos prières m'ont accompagné tout au long de mes études. Puisse Dieu tout puissant vous procurer longue vie, santé, bonheur et prospérité.

A mes chers frères : « Amar », sa femme « Khalida », « Yakob » et « Mohamed Nizer »

*A mes chères sœurs : « Hawa », son mari « Saber » et ses fils « Seif et Taim »
« Mariem », « Khadidja » et la plus jeune fille de la famille « Rouaissa »*

Trouvez dans ce travail mon estime et mon amour. Merci d'avoir été toujours là pour moi.

Je vous aime très fort.

A mes chères tantes Hayet et Wahiba. Toutes les paroles ne parviendraient jamais à exprimer tout l'amour que je vous porte.

A mes chères cousines « Khaoula », « Nihel », « Rania » et les plus jeunes filles « Loudjeine » et « Wiam ».

Et aussi mes chères « Chahra Zed » et « Nour El Houda ».

Je souhaite exprimer mes sincères et profonds remerciements à la famille Mezli.

A ma chère amie Nada

Tu as été pour moi plus qu'une amie! Je te dédie ce travail en témoignage de notre amitié que j'espère durera toute la vie.

A mon binôme « Soundous » avec laquelle j'ai partagé de très bons moments à l'hôpital et à l'université.

A tous mes amis et mes camarades de promo MHH pour les moments inoubliables passés ensemble.

Enfin, que tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude. Et Merci à tous ceux que j'ai oublié, qu'ils m'en excusent...

Halima.

Dédicaces

Je tiens à dédié ce modeste travail accompagné d'un profond amour à ma famille, elle m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

*À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, à la source d'amour incessible à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières «**Chelelle Fatiha**» ma mère.*

*A mon support dans ma vie, qui m'a appris, m'a supporté et ma dirigé vers la gloire «**BAËDECHE Salafi**» mon père.*

*A mon grand-père «**Chellal Ahmed**» ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

A mes deux grands-mères qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

*À ma chère sœur «**Nibrasse**» et mes chers frères «**Haithem**», «**Houmem**», «**Hachem**» ma source de joie et de bonheur.*

A tous mes Tantes et Oncles. Merci pour votre confiance et vos encouragements qui me touchent énormément.

*Dédicace spéciale à mes petits cousins et cousines **Lamis**, **Louay**, **Acile**, **Aissa** et **Amine**.*

*À toute la famille **CHELELLE** et **BAËDECHE** merci pour votre amour et vos encouragements.*

*À Mes très chères amies avec qui j'ai partagé de merveilleux moments durant ces années, **Assia** et **Dassel**, vous serez toujours dans mon cœur.*

A tous les amies de ma promotion, merci d'avoir fait de mes années étudiantes d'aussi belles années.

*A **Halima**, amie avant d'être binôme.*

Et à tous ceux à qui ma réussite tient à cœur...

SOUNDOS

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1. Généralités sur le genre <i>Acinetobacter</i>	2
1.1. Historique.....	2
1.2. Définition.....	3
1.3. Classification.....	3
1.4. Habitat.....	4
1.5. Caractères bactériologiques.....	4
1.5.1. Caractères morphologiques.....	4
1.5.2. Caractères biochimiques.....	5
1.5.3. Caractères culturels.....	6
1.5.4. Caractères génétiques.....	6
1.5.5. Pouvoir pathogène et virulence.....	7
1.5.6. Caractères épidémiologiques.....	8
2. Les infections nosocomiales à <i>Acinetobacter</i> en réanimation.....	9
2.1. Définition des infections nosocomiales.....	9
2.2. Les infections à <i>A. baumannii</i>	9
3. Les antibiotiques utilisés en réanimation contre les <i>Acinetobacter</i>	14
3.1. Généralité sur les antibiotiques.....	14
3.1.1. Définition.....	14
3.1.2. Classification.....	14
3.1.3. Cibles bactérienne.....	15
3.2. Principaux antibiotiques utilisés en réanimation et leur mode d'action.....	16
3.2.1. β -lactamines.....	16
3.2.2. Aminosides ou aminoglycosides.....	17
3.2.3. Quinolones / Fluoroquinolones.....	17
4. Résistance du genre <i>Acinetobacter</i> aux antibiotiques.....	18
4.1. Notions de l'antibiorésistance.....	18
4.1.1. Résistance naturelle.....	18
4.1.2. Résistance acquise.....	19
4.2. Mécanismes de la résistance acquise chez le genre <i>Acinetobacter</i>	19
4.2.1. Mécanisme biochimique et génétiques de résistance aux antibiotiques.....	19
5. Prévention du risque infectieux en réanimation et mesures de base.....	22
5.1. Précautions standards.....	22
5.1.1. Hygiène des mains.....	22

5.1.2. Port des gants.....	22
5.1.3. Masque.....	22
5.1.4. Tenue professionnelle.....	22
5.2. Stratégies de surveillance, de prévention et d'élimination de la transmission des infections à <i>Acinetobacter baumannii</i> dans les établissements de santé.....	22
5.2.1. Surveillance des infections à <i>A. baumannii</i> multirésistant.....	22
Matériels et méthodes	
1. Lieu d'étude.....	24
2. Période d'étude.....	24
3. Type d'étude.....	24
4. Nature des prélèvements étudiés.....	24
5. Services originaires des souches bactériennes.....	24
6. Méthode.....	25
6.1 Analyse cyto bactériologique.....	25
6.1.1. Prélèvement distale protégé (PDP).....	25
6.1.2. Urine.....	26
6.1.3. Hémo culture.....	27
6.1.4. Cathéter et sonde vésicale.....	28
6.2. Identification bactérienne.....	29
6.2.1. Appréciation macroscopique.....	29
6.2.2. Examen microscopique.....	29
6.2.3. Identification biochimique après la culture.....	29
6.3. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme ».....	31
6.3.1. Préparation de l'inoculum.....	32
6.3.2. Ensemencement.....	32
6.3.3. Choix des antibiotiques.....	32
6.3.4. Application des disques et incubation.....	32
6.3.5. Lecture et interprétation.....	33
Résultats et discussion	
1. Identification bactérienne.....	34
1.1. Aspect macroscopique.....	34
1.2. Aspect microscopique.....	35
1.3. Identification biochimique.....	36
2. Détermination du profil d'antibiorésistance.....	37
3. Les répartitions du genre <i>Acinetobacter</i> dans le service de réanimation selon plusieurs facteurs.....	45
3.1. Répartition des prélèvements selon le sexe.....	45

3.2. Répartition des prélèvements selon la tranche d'âge.....	46
3.3. Répartition globale d' <i>Acinetobacter</i> selon la nature du prélèvement.....	47
3.4. Répartition des espèces d' <i>Acinetobacter</i> selon la nature du prélèvement.....	48
3.5. Répartition globale des espèces d' <i>Acinetobacter</i>	50
Conclusion	51
Références bibliographiques	52
Résumés	
Annexes	

°C : Degrés Celsius.

ATB : Antibiotique.

BCC : Bouillon cœur-cervelle.

BGN : Bacilles à Gram négatifs.

BLSE : Béta-lactamase à spectre étendu.

BMR : Bactérie multi résistante.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

HMRUC : Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine.

I : Intermédiaire.

IU : Infection urinaire.

KT : Cathéter.

OMS : Organisation Mondiale de Santé.

PAVM : Pneumopathie acquise sous ventilation mécanique.

PDP : Prélèvement Distale Protégé.

PN : Pneumopathie nosocomiale.

PNAVVM : Pneumopathie nosocomiale acquise sous ventilation mécanique.

R : Résistante.

S : Sensible.

Figure 1 :	observation microscopique d' <i>Acinetobacter</i>	5
Figure 2 :	aspect de colonies d'A. <i>baumannii</i>	5
Figure 3 :	principaux mécanismes d'action des antibiotiques.....	16
Figure 4 :	culture d' <i>Acinetobacter</i> sur milieu Hektoen.....	34
Figure 5 :	culture d' <i>Acinetobacter</i> sur gélose nutritive (GN).....	34
Figure 6 :	culture d' <i>Acinetobacter</i> sur gélose au sang cuit (Chocolat).....	35
Figure 7 :	coloration de Gram des cellules d' <i>Acinetobacter</i>	35
Figure 8 :	fiche de résultat de la galerie API 20 E.....	37
Figure 9 :	antibiogramme d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	38
Figure 10 :	répartition globale selon le sexe.....	45
Figure 11 :	répartition globale des prélèvements positifs aux <i>Acinetobacter</i> selon la tranche d'âge.....	46
Figure 12 :	répartition globale d' <i>Acinetobacter</i> selon la nature du prélèvement.....	47
Figure 13 :	répartition des espèces d' <i>Acinetobacter</i> selon la nature du prélèvement.....	49
Figure 14 :	les espèces du genre <i>Acinetobacter</i> isolées à partir de prélèvements distaux protégés (PDP).....	49
Figure 15 :	répartition globale des espèces d' <i>Acinetobacter</i> isolées dans le service de réanimation.....	50

Tableau 1 :	nomenclature	actuelle	du	genre	
<i>Acinetobacter</i>					3
Tableau 2 :	principales	familles		d'antibiotiques	
.....					15
Tableau 3 :	profil	de	la	sensibilité	aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter</i>
<i>sp</i>					42
Tableau 4 :	profil	de	la	sensibilité	aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter</i>
<i>baumannii</i>					43
Tableau 5 :	profil	de	la	sensibilité	aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter</i>
<i>calcoaceticus</i>					43
Tableau 6 :	répartition	globale	des	populations	selon le
sexe.....					45
Tableau 7 :	répartition globale des prélèvements positifs aux <i>Acinetobacter</i> selon la tranche d'âge.....				46
Tableau 8 :	répartition	globale	d' <i>Acinetobacter</i>	selon	la nature du
prélèvement.....					47
Tableau 9 :	répartition	des	espèces	d' <i>Acinetobacter</i>	selon la nature du
prélèvement.....					48
Tableau 10 :	répartition globale des espèces d' <i>Acinetobacter</i> isolées dans le service de réanimation.....				50

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) ou infections hospitalières sont des infections acquises dans un établissement de soins et qui n'étaient pas présentes à l'admission, ni en incubation au moment de l'hospitalisation. L'incidence globale dans les unités des soins intensifs est de 6,9 à 19,9% des patients hospitalisés. Et varie grandement d'un secteur hospitalier à l'autre aussi bien par sa fréquence que par son type. L'infection nosocomiale en milieu de réanimation constitue, de nos jours, un réel problème de santé publique (**Qassimi, 2010**).

Le genre *Acinetobacter* regroupe une cinquantaine d'espèces parmi lesquelles *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* et *A. nosocomialis* qui sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales sévères à type de pneumopathies, de bactériémies, d'infections urinaires ou de surinfections de plaies. Les bactéries de ce genre sont des bactéries ubiquitaires, isolées de l'environnement mais aussi de la flore cutanée de l'homme (**Tiry, 2015**).

L'espèce *A. baumannii* a une capacité importante à générer des épidémies, notamment dans les services de réanimation où elle affecte les patients les plus affaiblis. Sa prévalence n'a cessé d'augmenter ces dernières années et l'émergence récente de carbapénémases menace l'arsenal thérapeutique actuel (**Tiry, 2015**). Les problèmes majeurs que posent les *Acinetobacter* à ce jour sont l'augmentation de leur incidence dans les unités de soins intensifs, leur persistance et leur multi résistance aux principales familles d'antibiotiques (pénicillines, aminosides, quinolones, etc.) (**Joly-Guillou, 1993**).

Les infections à *Acinetobacter* sont synonymes de mauvaise qualité des soins. Le contrôle de sa diffusion et son éradication doivent être une priorité absolue au niveau de notre établissement.

L'objectif de cette étude est d'isoler des souches d'*Acinetobacter* à partir des prélèvements des patients hospitalisés au niveau du service de réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC), puis l'identification de ces germes isolés au sein du même hôpital, ainsi que, la détermination de son profil de résistance aux antibiotiques.

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur le genre *Acinetobacter*

1.1. Historique

L'histoire du genre *Acinetobacter* débute au début du XXème siècle avec la description par un microbiologiste néerlandais (Beijerinck 1911) d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* isolé à partir de prélèvements du sol (**Figueiredo, 2011**).

C'est en 1954 que Brisou et Prévost proposent la désignation du genre *Acinetobacter* (du grec *akinetos* : « incapable de bouger ») pour regrouper une collection hétérogène de bactéries immobiles, à coloration de Gram négative et à réaction d'oxydase positive ou négative.

En 1961, dans son traité de systématique bactérienne Prévot décrit 18 espèces. En 1968, une étude de taxonomie numérique réalisée par Baumann et al. montre que les souches oxydase négative constituent un unique genre et ces auteurs restreignent le genre *Acinetobacter* aux seules souches oxydase négative (**Figueiredo, 2011**).

La réorganisation de ce genre a été initiée par Bouvet et Grimont en 1986. L'étude de 85 souches permet à ces auteurs de distinguer 12 genomospecies. Les genomospecies 1 et 8 correspondent, respectivement, à *Acinetobacter calcoaceticus* et à *Acinetobacter lwoffii*. Les genomospecies 2, 4, 5 et 7 ont été dénommées et correspondent respectivement à *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii* et *Acinetobacter johnsonii*. Les autres genomospecies n'ont pas reçu de nom soit parce qu'il est impossible de les caractériser par leurs caractères phénotypiques soit parce qu'elles renferment un nombre insuffisant de souches (**Chahmout, 2011**).

En 2001, Nemeč et al. décrivent *Acinetobacter ursingii* et *Acinetobacter schindleri*.

En 2003, huit nouvelles nomenclatures ont été validement publiées par Carr et al. : *Acinetobacter baylyi*, *Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter gernerii*, *Acinetobacter grimontii*, *Acinetobacter parvus*, *Acinetobacter tandoii*, *Acinetobacter tjernbergiae* et *Acinetobacter townnerie* (**Fomba, 2006**).

1.2. Définition

Les *Acinetobacter* sont des coccobacilles, courts, souvent regroupées en diplocobacilles, immobiles, à Gram négatif. Ce sont des aérobies stricts souvent en capsulées ne réduisant pas les nitrates, catalase positive et oxydase négative (Avriljl *et al.*, 2000).

1.3. Classification

Longtemps considéré comme un représentant de la famille des *Neisseriaceae*, le genre *Acinetobacter* est actuellement inclus dans la famille des *Moraxellaceae* (ordre des *Pseudomonadales* ; classe des *Gammaproteobacteria* ; phylum des *Proteobacteriae* ; domaine des *Bacteria*) (tableau 1, ci-dessous) (Fomba, 2006).

Tableau 1 : nomenclature actuelle du genre *Acinetobacter* (Tiry, 2015).

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Moraxellaceae</i>
Genre	<i>Acinetobacter</i>

Actuellement, le genre *Acinetobacter* englobe 25 espèces auquel un nom officiel a été donné et d'autres sont reconnues sans attribution d'un nom officiellement. Les espèces ayant un nom officiel sont comme suit : *A. baumannii*, *A. baylyi*, *A. beijerinckii*, *A. bereziniae*, *A. bouvetii*, *A. calcoaceticus*, *A. gernerii*, *A. grimontii*, *A. guillouiae*, *A. gyllenbergii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. nosocomialis*, *A. parvus*, *A. pittii*, *A. radioresistens*, *A. schindleri*, *A. soli*, *A. tandoii*, *A. tjernbergiae*, *A. townneri*, *A. ursingii* et *A. venetianus* (Khaldi, 2016).

Certaines espèces sont très proches les unes des autres et il est difficile de les distinguer phénotypiquement. En raison de leur haute ressemblance, le terme de complexe *A. calcoaceticuse* - *A. baumannii* (ACB) a été créé par Gerner-Smidt et al. pour grouper ces quatre espèces : *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii* et *A. nosocomialis* (Khaldi, 2016).

1.4. Habitat

Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont considérées comme des microorganismes ubiquitaires et peuvent être isolées à partir d'échantillons humains, animaux et environnementaux.

Acinetobacter spp. fait partie de la flore cutanée normale de l'homme. Certaines études ont montré que le taux de colonisation cutanée par les souches d'*Acinetobacter spp.* chez les sujets qui ne sont pas hospitalisés est de 43%, alors qu'il est de 75% chez les patients hospitalisés (**Uwingabiye, 2018**).

Ce sont des bactéries de l'environnement, capables d'utiliser une grande variété de substrats comme source de carbone, ce qui leur confère un habitat très large. Elles sont retrouvées dans le sol, les eaux et les boues (**Berche et al., 1988 ; Flandrois, 1997**).

Les espèces les plus fréquemment isolées sur la peau humaine saine sont : *A. lwoffii*, *A. johnsonii*, *A. guillouiae*, *A. junii*, *A. pittii* et *A. radioresistens*. Une étude néerlandaise publiée en 2005 a rapporté que la prévalence d'*Acinetobacter spp.* dans les échantillons fécaux des individus non hospitalisés était de 24,6%. Paradoxalement, *A. baumannii*, l'espèce d'*Acinetobacter* la plus répandue responsable des infections nosocomiales, a été très rarement retrouvée sur la peau et dans les selles humaines (**Uwingabiye, 2018**).

1.5. Caractères bactériologiques

1.5.1. Caractères morphologiques

Les *Acinetobacter* sont définis comme étant des cellules de 1,5 µm de longueur dont la forme varie en fonction de la phase d'évolution de cocciforme à coccobacilles à Gram négatif (figures 1 et 2, ci-dessous), immobiles, aérobies stricts, ne fermentant pas le glucose avec des réactions d'oxydase négative et catalase positive avec un contenu en guanine+ cytosine de 39% - 47%. Ils possèdent une nitrate réductase mais ne les réduisent pas en milieu complexe (**Khaldi, 2016**).

Les espèces d'*Acinetobacter* contiennent une enveloppe cellulaire à couches multiples, comprenant une membrane externe et une membrane cytoplasmique interne séparées par l'espace périplasmique (**Uwingabiye, 2018**).

Bien qu'immobiles, certaines souches peuvent présenter une « twitching motility », sorte de mobilité due à des fimbriae polaires défectueux sur milieu solide. Trente pour cent des souches d'*A. baumannii* possèdent une capsule, que l'on peut identifier à la coloration de Gram par le halo clair qui entoure la bactérie (Azzam, 2018).

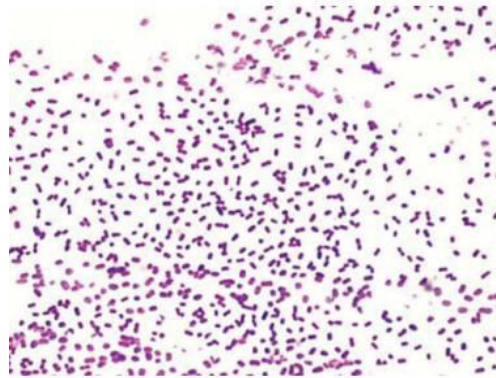


Figure 1 : observation microscopique d'*Acinetobacter* (Hidri,2012).

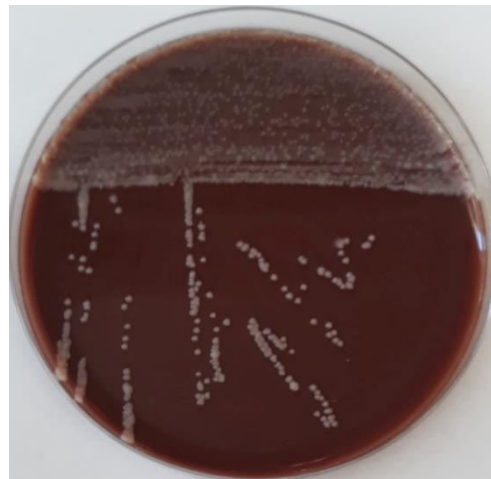


Figure 2 : aspect de colonies d'*A. baumannii*.

1.5.2. Caractères biochimiques

Toutes les espèces d'*Acinetobacter* sont strictement aérobies, non fermentants, prototrophes, non fastidieuses, facilement cultivables sur la plupart des milieux ordinaires. (Uwingabiye, 2018).

Ces bactéries peuvent utiliser une sélection variée de matières organiques comme sources de carbone. Les souches d'*Acinetobacter spp.* ne réduisent généralement pas les nitrates en nitrites en milieu complexe. Ils obtiennent de l'azote à partir de sels d'ammonium et de nitrate. Donc, elles ne sont pas capables de croître en anaérobiose en utilisant les nitrates comme accepteur final d'électrons. Ils sont capables d'utiliser les divers composés organiques pour le métabolisme et la production d'énergie, y compris les sucres, les acides gras, certains acides aminés, les chaînes hydrocarbonées non ramifiées et certains composés aromatiques (y compris les acides aminés aromatiques). L'utilisation des sucres comme source de carbone pour les voies métaboliques par *A. baumannii* est limitée au D-glucose, au D-ribose, au D-xylose et au L-arabinose (**Uwingabiye, 2018**).

L'oxydation du glucose et d'autres sucres en acide gluconique résulte de la présence d'un glucose déshydrogénase membranaire. Le D-glucose est métabolisé par *A. baumannii* par la voie d'Etner-Doudoroff. Les pentoses utilisés par *A. baumannii* dans le métabolisme sont dégradés par un aldose déshydrogénase. Les acides pentoïques oxydés sont ensuite convertis en α -cétoglutarate en plusieurs étapes impliquant des mécanismes de déshydratation et de déshydrogénation (**Uwingabiye, 2018**).

1.5.3. Caractères cultureux

Les *Acinetobacter* cultivent bien sur milieux usuels à une température optimale de 30 - 32 °C. En 24 heures, les colonies ont un diamètre de 2 - 3 mm sur gélose ordinaire ; elles sont convexes, à bords réguliers, souvent translucides. *A. baumannii* est la seule espèce capable de croître à 44 ou 45 °C. Certaines souches d'*Acinetobacter* dégagent lors de la culture une odeur désagréable ; quelques rares souches sont hémolytiques sur gélose au sang. (**Flandrois, 1997 ; Avril et al., 2000**).

1.5.4. Caractères génétiques

a) Structure antigénique

Acinetobacter, germe ubiquitaire, est complexe du point de vue de sa structure antigénique de surface. Plusieurs séries de travaux ont mis en évidence des groupes sérologiques différents. Marcus en 1969 en utilisant des anticorps marqués à la fluorescéine montre l'existence de 28 sérovars chez les souches ne produisant pas d'acides par oxydation du glucose. Adam à l'aide d'immunoserum préparé avec des bactéries chauffées ou formolées

distingue 41 facteurs K par agglutination sur lame et 40 groupes O par hémagglutination indirecte. Certaines parentés antigéniques ont été décrites entre le polysaccharide capsulaire de certaines souches d'*Acinetobacter* et les streptocoques B, G, le pneumocoque type 23. De même des réactions croisées s'observent entre des anticorps anti-Chlamydia et un antigène soluble non dialysable et thermostable d'*Acinetobacter* (Chahmout, 2011).

b) Structure génomique

A. baumannii se caractérise par un unique chromosome circulaire contenant 3.976.747 paire de base dans lesquelles 3454 sont utilisées pour le codage de protéines.

Une étude faite sur une souche nommée AYE d'*A. baumannii* qui contient une île de résistance à 86 KO appelée AbaR1, composée de 45 gènes de résistance dont 25 contre les antibiotiques, est actuellement la plus grande île connue de nos jours (Chahmout, 2011).

Ces gènes résistent, non seulement, aux différents antibiotiques, mais aussi aux métaux, arsenic et mercure. Il existe aussi 14 gènes de résistance qui codent pour les intégrons classe 1 qui sont des sections de chromosomes capables de recombinaison, d'expression, et d'intégration. En encodage 88 ORFs (cadre ouvert de lecture), dont 82 éléments de mobilité, tels que les transposases, ont été découverts (Chahmout, 2011).

1.5.5. Pouvoir pathogène et virulence

Par le passé, le genre *Acinetobacter* était considéré comme faiblement pathogène. Mais la description de pneumonies communautaires graves à *Acinetobacter* indique que ces bactéries peuvent avoir un pouvoir pathogène important. Il convient de noter que les études portant sur la virulence d'*Acinetobacter* sont encore peu nombreuses, notamment en comparaison avec les études portant sur l'épidémiologie et la résistance aux antibiotiques (Figueiredo, 2011).

- Le lipopolysaccharide produit par *Acinetobacter* présente une toxicité létale chez la souris et cette endotoxine est détectée lors de bactériémies à *Acinetobacter*. Il altère aussi l'action bactéricide du complément dans le sérum humain en agissant de façon synergique avec la capsule polysaccharidique.

- La production d'exopolysaccharides, décrite pour 30% des souches d'*Acinetobacter* protège les bactéries vis-à-vis des défenses de l'hôte.

- Le quorum-sensing est un mécanisme de régulation largement présent chez les bactéries à Gram négatif et quatre systèmes de quorum-sensing ont été décrits chez *Acinetobacter*. Ces systèmes semblent jouer un rôle d'auto-induction de facteurs de virulence multiples.
- *Acinetobacter spp.* présente une surface cellulaire de caractère hydrophobe, une caractéristique favorisant son adhérence sur des polymères (cathéters, sondes).
- Le contact entre la bactérie et les cellules de l'hôte implique des adhésines, des fimbriae ou des polysaccharides.
- La production de vérotoxine est associée à des diarrhées sanglantes et a été mise en évidence chez *A. haemolyticus*.
- Les sidérophores sont des protéines permettant la captation du fer de l'hôte au profit de la bactérie, or la diminution de la concentration en fer extracellulaire est un mécanisme de défense possible contre les infections.
- OmpA est une protéine de membrane externe dont la séquence est très conservée entre *A. radioresistens*, *A. baumannii* et *A. junii* et capable d'induire l'apoptose de cellules épithéliales de l'hôte.
- L'activité enzymatique de certaines enzymes comme les estérases, les aminopeptidases, les uréases et les phosphatases acides, pourraient aussi jouer un rôle dans la virulence chez *Acinetobacter spp.* (**Figueiredo, 2011**).

1.5.6. Caractères épidémiologiques

L'*Acinetobacter* a été largement médiatisé ces dernières années en raison des épidémies de grande envergure dont il a été l'origine. Certaines souches de cette bactérie sont multirésistantes aux antibiotiques et peuvent persister plusieurs mois chez les patients colonisés (**Khaldi, 2016**).

a) Réservoir

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont ubiquitaires et peuvent être trouvées dans la nature au niveau du sol, l'eau et les déchets mais aussi à partir d'animaux, de volaille, viandes fraîches, laits contaminés mais également au niveau d'aliments surgelés. Elles sont également présentes dans la flore cutanée de l'homme, la salive, mais aussi dans le tractus respiratoire (**Khaldi, 2016**).

b) Mode de transmission

La transmission de l'*Acinetobacter* est essentiellement manu portée par l'intermédiaire du personnel hospitalier au contact de sujets porteurs. Ainsi, la multiplication des actes de soins et également l'utilisation de dispositifs invasifs sont des facteurs de risque de transmission de cette bactérie. A noter qu'une étude expérimentale avait rapporté que ce germe peut survivre pendant 60 min sur les doigts d'une main (Khaldi, 2016).

c) Facteurs de virulence et persistance dans le milieu hospitalier

La contamination de l'environnement a été démontrée dans plusieurs épidémies et plusieurs expériences ont montré que l'*A. baumannii* peut survivre sur de multiples surfaces abiotiques, y compris le plastic, inox, céramique, caoutchouc et le verre. Certaines souches épidémiques ont même pu être isolées à partir d'un support de lit 9 jours après que le patient infecté soit déclaré sortant (Khaldi, 2016).

2. Les infections nosocomiales à *Acinetobacter* en réanimation

2.1. Définition des infections nosocomiales

Une infection nosocomiale est une infection qui n'est pas présente ou en incubation lors de l'admission. Par convention, on admet qu'une infection survenant plus de 48 heures après l'admission, ou directement liée à un acte de soin (quelque soit sa date de survenue), est nosocomiale (Brun-Buisson, 2005).

La caractéristique principale des infections nosocomiales observées en réanimation est d'être directement ou indirectement associée aux techniques de suppléance invasives utilisées pour pallier une défaillance vitale, qui nécessitent le plus souvent la mise en place de corps étrangers (ou « dispositifs invasifs » tels que cathéters, sondes, etc.) (Brun-Buisson, 2005).

2.2. Les infections à *A. baumannii*

Un nombre limité d'*Acinetobacter* semble être impliqué en pathologie humaine, en particulier les espèces *A. baumannii*, *A. pittii* et *A. nosocomialis*. D'autres espèces sont rarement isolées chez les patients, il s'agit d'*A. haemolyticus*, *A. johnsonii* ou encore d'*A. lwoffii*, mais leur rôle pathogène est discuté (Khaldi, 2016).

a) Les infections communautaires

Les *Acinetobacter* sont des pathogènes opportunistes et sont impliqués dans les infections aiguës chez l'être humain sur un terrain généralement débilisé. Les infections à *Acinetobacter* restent rares et ont été décrites depuis 20 ans : elles représentent 0,1% des infections communautaires et sont le plus souvent pulmonaires et d'évolution plus grave que les pneumopathies nosocomiales avec une prédilection pour les zones tropicales (**Khaldi, 2016**).

b) Les infections nosocomiales

A. baumannii a été reconnu depuis les années 1980 comme un agent responsable d'infections liées aux soins, et cette bactérie a un impact majeur grandissant en terme de santé publique vu la progression rapide des souches résistantes ainsi que l'acquisition continue de mécanismes additionnels de résistance (**Khaldi, 2016**).

- **Pneumopathie nosocomiale (PN)**

La pneumopathie nosocomiale (PN) est un problème de santé publique qui concerne tous les services hospitaliers et en particulier la réanimation (**Shimi et al., 2015**).

Une pneumonie nosocomiale est une infection pulmonaire survenant durant un séjour hospitalier, qui n'existait pas ou n'était pas en incubation à l'admission à l'hôpital. En fonction du délai de survenue de PN, on distingue :

- **Les pneumopathies précoces** : survenant avant le 5^{ème} jour d'hospitalisation, et qui relèvent un phénomène de colonisation des voies aériennes par la flore endogène du patient.

- **Les pneumopathies tardives** : après le 5^{ème} jour, et qui sont dues à une contamination par des bactéries plus résistantes d'origine hospitalière.

Pour que l'infection se produise, l'agent pathogène doit atteindre les voies respiratoires inférieures et les coloniser (**Chahmout, 2011**).

Les sources de contamination classiquement reconnues sont en rapport avec la technicité des soins, l'environnement et le risque de transmission croisée entre le patient et le personnel soignant ou d'autres patients. En conséquence, les facteurs de risque de

colonisation sont principalement représentés par des facteurs liés à l'hôte et/ou aux traitements suivis (sévérité de l'affection sous-jacente, immunodépression, chirurgie ou antibiothérapie préalables, gestes invasifs, etc.) (Cook *et al.*, 1998).

La plupart des patients de réanimation nécessitent le recours à la ventilation mécanique invasive et donc la pneumopathie acquise de ces ventilations (PAVM) est définie par une pneumopathie infectieuse nosocomiale développée dans un délai ≥ 48 h après l'intubation et la ventilation mécanique. Elle représente la première cause de mortalité due à une infection nosocomiale et le principal facteur de risque d'acquisition d'une (PNAVM) est la présence de la sonde d'intubation endotrachéal (Nasiriani *et al.*, 2016). La durée et l'usage d'équipements de ventilation assistée mal désinfectés est également considérée comme un des facteurs de risque de pneumopathie nosocomiale (Ricard, 2007).

- **Les infections urinaires (IU)**

Elle est la plus fréquente des infections nosocomiales. Elle représente toujours la deuxième cause d'infection acquise en réanimation après les pneumopathies nosocomiales et elle est l'agression d'un tissu par un (ou plusieurs) microorganisme, en terme global elle est définie par la présence anormale de germes dans l'urine. Elle regroupe à la fois la colonisation ou bactériurie asymptomatique et l'infection du tractus urinaire symptomatique qui génère une réponse inflammatoire et des signes de nature et d'intensité variables selon le terrain (Cabrolier et Bertrand, 2014).

Celles-ci surviennent généralement sur sonde. Les infections à *Acinetobacter* sont souvent associées à la présence de dispositifs invasifs, de prothèses, de cathéters chez des patients immunodéprimés. Elles étaient parmi les plus fréquentes des infections nosocomiales à *Acinetobacter* lors des premières années d'observation, mais leur tendance à la diminution est probablement liée à l'amélioration des systèmes de sondage comme le système clos. Le retrait de la sonde est généralement la mesure efficace appliquée. D'autres espèces que *A. baumannii*, *A. junii* ou *A. lwoffii* sont plus rarement en cause (Joly-Guillou, 2006).

- **Les septicémies nosocomiales**

Elles ont de multiples localisations initiales, avec au premier plan les pneumopathies, mais peuvent être aussi d'origine traumatique, chirurgicale, ou liées aux cathéters, aux dialyses péritonéales ou chez les grands brûlés. Les septicémies nosocomiales

représentent les infections les plus graves parmi les infections à *Acinetobacter* (**Joly-Guillou, 2006**).

Elles sont secondaires et surviennent le plus souvent :

- Après mise en place d'une ventilation assistée lorsqu'il existe une colonisation ou une infection des voies respiratoires ;
- A la suite d'une intervention chirurgicale digestive ;
- Après mise en place ou lors du retrait d'un cathéter veineux (risque de thrombose septique autour du cathéter) ;
- Après antibiothérapie à large spectre (**Riviere, 1995**).

- **Les méningites**

La méningite nosocomiale survient pratiquement et de manière exclusive sous forme secondaire après un traumatisme crânio-cérébral ou après intervention neurochirurgicale. Elle est considérée comme une rare complication des procédures neurochirurgicales. Cependant, les méningites nosocomiales à bacilles à Gram négatif se produisent de façon occasionnelle dans les unités de soins intensifs. *A baumannii* est rarement décrit comme agent responsable de méningites nosocomiales (**Chahmout, 2011**).

- **Les infections du site opératoire**

- **Infection superficielle du site opératoire**

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés au-dessus de l'aponévrose de revêtement diagnostiquée par cas 1, 2 et 3.

1^{er} Cas : écoulement purulent de l'incision.

2^{ème} Cas : microorganisme associé à des polynucléaires neutrophiles à l'examen direct, isolé par culture obtenue de façon aseptique du liquide produit par une incision superficielle ou d'un prélèvement tissulaire.

3^{ème} Cas : ouverture de l'incision par le chirurgien.

Et présence de l'un des signes suivants : douleur ou sensibilité à la palpation, tuméfaction localisée, rougeur et chaleur.

Et microorganisme isolé par culture ou culture non faite (une culture négative, en l'absence de traitement antibiotique, exclue le cas) (**Oubihi, 2015**).

- Infection profonde du site opératoire

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique, affectant les tissus ou organes ou espaces situés au niveau ou au-dessous de l'aponévrose de revêtement, ou encore ouverts ou manipulés durant l'intervention, diagnostiquée par cas 1, 2 et 3.

1^{er} Cas : écoulement purulent provenant d'un drain sous aponévrotique ou placé dans l'organe ou le site ou l'espace.

2^{ème} Cas : déhiscence spontanée de l'incision ou ouverture par le chirurgien et au moins un des signes suivants tels qu'une fièvre supérieure à 38 °C, une douleur localisée ou sensibilité à la palpation.

Et microorganisme isolé par culture, obtenue de façon aseptique, d'un prélèvement de l'organe ou du site ou de l'espace ou culture non faite (une culture négative en l'absence de traitement antibiotique, exclue le cas).

3^{ème} Cas : abcès ou autres signes d'infection observés lors d'une ré-intervention chirurgicale, d'un examen histo-pathologique, d'un examen d'imagerie ou d'un acte de radiologie interventionnelle (**Oubihi, 2015**).

• Autres infections sévères

Parmi les autres infections sévères à *Acinetobacter*, ont été décrites les méningites secondaires (chirurgie crânienne, traumatisme crânien, ventriculographie, aspiration transnasale d'un craniopharyngiome) ; des cas de méningites chez des enfants leucémiques, des endocardites sur prothèse, des infections cutanéomuqueuses extensives chez les grands brûlés sont parmi les plus sévères des infections à *Acinetobacter* (**Joly-Guillou, 2006**).

3. Les antibiotiques utilisés en réanimation contre les *Acinetobacter*

3.1. Généralité sur les antibiotiques

3.1.1. Définition

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des microorganismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et héli-synthèse (**Mangin, 2016**).

3.1.2. Classification

Pour mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on procède à leur classification selon certains critères (**Talbert *et al.*, 2015**).

- Les antibiotiques ayant une même structure chimique, à l'origine de leur mécanisme d'action se classent dans une même famille ;
- Au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes ;
- Au sein d'un même groupe, l'activité antibactérienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leurs propriétés pharmacologiques ou leur tolérance ;
- Peuvent être aussi classés selon l'origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi-synthétique (**Ramdani *et al.*, 2009**).

Tableau 2 : principales familles d'antibiotiques (Paolozzi et Liebart, 2015).

Familles	Caractéristiques chimiques	Sous familles
β-lactamines	Cycle à 4, 5 ou 6 atomes de C avec un – NH fixé au C- β .	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactames.
Glycopeptides	Heptapeptide cyclique liant un sucre (mannose, glucisamine ou glucose).	Téicoplanine, vancosamine, vancomycine.
Tétracyclines	Noyau naphtacèn – carboxamidetétracyclique lié à des substituants en position 5, 6, 7.	
Macrolides et apparentés	Anneau macrolactonique modifié par un ou plusieurs sucres.	
Phénicolés	Dérivés de l'acide dichloroacétique et d'un phénylsubstitué.	Chloramphénicoles, thiamphénicoles.
Aminosides	Aminocyclitol, lié à 2 ou rarement 3 oses.	Streptomycine.
Ansamycines	2 cycles aromatiques liés par une longue chaîne constituée d'un aminocyclitol auquel sont liés des oses.	Rifampycine, rifamycine, rifabutine.
Sulfamides	Para-aminobenzène sulfamide.	
Triméthoprime	Diaminopyrimide.	Inhibiteur compétitif la dihydrofolate-réductase.
Polymyxines	Antibiotiques peptidiques cycliques.	Polymyxines B et E.

3.1.3. Cibles bactérienne

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanisme d'action. Ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé « site d'action » (Talbert *et al.*, 2015) :

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine) ;
- Inhibition de la synthèse protéique (aminosides, cyclines, phénicolés, acide fusidique, macrolides, oxazolidinones, mupirocine, synergistines) ;
- Action sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones, nitroimidazolés, rifamycines, sulfamides triméthoprimine) ;
- Action sur les membranes (polymyxines, daptomycine) (**Mangin, 2016**).

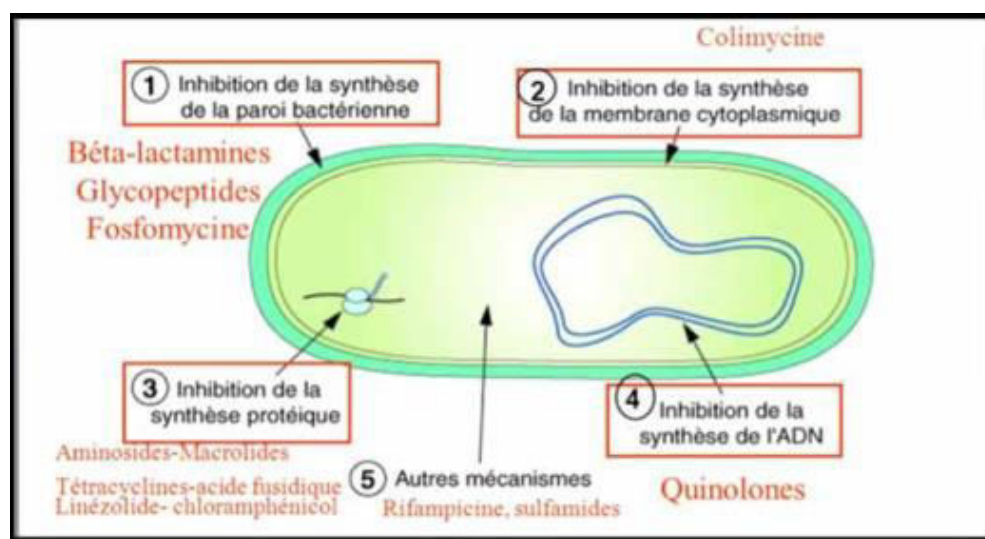


Figure 3 : principaux mécanismes d'action des antibiotiques (**SOMIPEV, 2017**).

3.2. Principaux antibiotiques utilisés en réanimation et leur mode d'action

3.2.1. β -lactamines

Les β -lactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus importante par le nombre de molécules disponibles et par le volume d'utilisation. Ces molécules ont la même structure chimique de base : le cycle β -lactame. À partir de ce cycle, quatre sous-familles ont été développées par adjonction de chaînes latérales, les deux premières étant de très loin les plus importantes (**AZZAM, 2018**) :

- Les pénicillines (ou pénames), sont constituées d'un nombre important de molécules dont les principales sont :

- Benzylpénicillines : pénicilline G.
 - Aminopénicillines : ampicilline, amoxicilline.
 - Uréidopénicillines : pipéracilline.
 - Carboxypénicillines : carbénicilline, ticarcilline.
- Les céphalosporines (ou céphèmes), on distingue Cinq générations de céphalosporines. Elles sont classées en fonction de leur date d'apparition, qui correspond à chaque fois à l'acquisition de nouvelles propriétés. En voici quelques exemples :
 - Première génération : céfalotine, céfazoline.
 - Deuxième génération : céfamandole, céfuroxime, céfoxitine.
 - Troisième génération : céfotaxime, céftazidime, céftriaxone.
 - Quatrième génération : céfépime, céfpirome.
 - Cinquième génération : céftobiprole.
 - Les carbapénèmes (ou pénèmes), sont des ATBs à large spectre.
 - Les monobactames.

3.2.2. Aminosides ou aminoglycosides

Les aminosides sont des bases avec une activité antibactérienne optimale en pH alcalin. Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides (**Azzam, 2018**).

3.2.3. Quinolones / Fluoroquinolones

Les quinolones et les fluoroquinolones agissent par inhibition de la réplication de l'ADN bactérien. La gyrase est une enzyme qui contrôle l'enroulement en super hélice de l'ADN durant sa réplication. Les antibiotiques de cette famille se lient sur le complexe ADN-gyrase et inhibent la fonction de cette enzyme avec comme conséquence l'emmêlement de la double hélice durant la réplication des chromosomes bactériens. Ce faisant, ils conduisent à la mort bactérienne (**Azzam, 2018**).

4. Résistance du genre *Acinetobacter* aux antibiotiques

Malgré le nombre important de familles d'antibiotiques et de molécules disponibles, le choix d'une antibiothérapie pour une infection nosocomiale à *Acinetobacter* est restreint et les options sont limitées en raison de la multi-résistance d'*Acinetobacter*, facteur d'échecs thérapeutiques. Cette situation est évolutive et la publication fréquente de nouvelles enzymes inactivant les β -lactamines, notamment les carbapénèmes. Il est à noter qu'en dehors d'*A. baumannii*, la plupart des autres espèces d'*Acinetobacter*, rarement pathogènes, sont moins souvent porteuses de mécanismes de résistance (Joly-Guillou, 2006).

4.1. Notions de l'antibiorésistance

4.1.1. Résistance naturelle

Les souches sauvages d'*A. baumannii* produisent une céphalosporinase chromosomique non inductible AmpC, également connue sous le nom « *Acinetobacter – derived cephalosporinases* » (ADCs), responsable de la résistance naturelle de ces bactéries à la pénicilline G, aux aminopénicillines et aux céphalosporines de première et deuxième générations (Uwingabiye, 2018).

Contrairement aux enzymes AmpC identifiées chez les autres organismes à Gram négatif, l'expression du gène AmpC n'est pas inductible. Ceci est dû au fait qu'aucun gène régulateur n'est présent en amont du gène AmpC. *A. baumannii* possède un gène codant une enzyme de classe D ou oxacillinase chromosomique naturelle OXA-51, et il est utilisé comme marqueur d'identification d'espèce *A. baumannii*. Il existe de nombreuses variantes d'OXA-51 comme OXA-69 et OXA-66. Le rôle de ces enzymes dans l'expression de la résistance aux antibiotiques est très faible voire inexistant (Decré, 2012).

A. baumannii a des porines moins nombreuses et plus petites que les autres bactéries à Gram négatif, par conséquent, a une imperméabilité naturelle. Cette imperméabilité est associée au gène de pompe d'efflux RND et adeIJK, qui augmentant la résistance aux antibiotiques à large spectre incluant le chloramphénicol, l'ertapénème, la fosfomycine, la triméthoprime, l'acide pipémidique, la norfloxacine, les furannes et l'aztréonam (Uwingabiye, 2018).

4.1.2. Résistance acquise

A. baumannii a su s'adapter au cours du temps pour devenir une bactérie multi-résistante aux antibiotiques par sa grande capacité d'acquérir des mécanismes de résistance. En matière de résistance, elle a su utiliser une variété de mécanismes associant les mutations, acquisition de séquences d'insertion jouant le rôle de promoteur de gènes silencieux ou acquisition de gènes de résistance à partir d'espèces plus ou moins proches sous la forme de plasmides, transposons ou cassettes d'intégrons (Uwingabiye, 2018).

4.2. Mécanismes de la résistance acquise chez le genre *Acinetobacter*

4.2.1. Mécanisme biochimique et génétiques de résistance aux antibiotiques

L'histoire du genre *Acinetobacter* est marquée par une évolution impressionnante de la résistance aux antibiotiques en termes de rapidité et de diversité des mécanismes et des matériels génétiques mis en jeu. Dans les années 70, cette bactérie était plus souvent considérée comme un contaminant des prélèvements bactériologiques que comme agent responsable d'infections. L'utilisation non contrôlée d'antibiotiques à large spectre a contribué à la sélection et à l'émergence de souches multi-résistantes, voire pan-résistantes (Uwingabiye, 2018).

a) Résistance acquise aux Bêta lactamines

- **Les bêta-lactamases**

La résistance aux bêta-lactamines est dominée par la production de bêta-lactamases à la fois chromosomiques ou acquises (Decré, 2012).

- **Pénicillinases**

Il s'agit principalement de l'enzyme TEM-1, les autres types moins fréquents étant TEM-2, CARB-5 et SCO-1. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, pipéracilline) et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam. Une oxacillinase à spectre étroit (OXA-21), portée par un intégron et conférant un phénotype de pénicillinase, a été décrite en 1997 (Decré, 2012).

- Hyperproduction de céphalosporinase

La résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) liée à la surexpression de céphalosporinases chromosomiques est apparue vers la fin des années 80.

La présence d'une séquence d'insertion ISAbal en amont du gène blaampC est à l'origine d'une surexpression du gène grâce au rôle de promoteur que joue cette séquence en s'insérant à quelques bases seulement du codon d'initiation du gène. Lorsque la céphalosporinase est surexprimée par ce système, la ceftazidime est inactivée, comme l'ensemble des C3G. La ticarcilline est la pénicilline la plus stable vis-à-vis de ce mécanisme de résistance. Le sulbactam peut être actif car en plus de sa capacité à inhiber les pénicillinases et un peu les céphalosporinases d'*A. baumannii*, il exerce une activité intrinsèque sur *Acinetobacter* (CMI de l'ordre de 2 mg/l). Toutefois, cette dernière n'a d'intérêt que sur les souches ticarcilline-intermédiaires non productrices de pénicillinase (Decré, 2012).

- Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

L'acquisition de BLSE conférant une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des carbapénèmes est un phénomène rare chez *Acinetobacter*. Elles sont habituellement d'origine plasmidiques et sont apparues dans les années 90. L'enzyme PER-1 a été largement identifiée dans les souches isolées en Turquie. Depuis, plusieurs variantes ont été caractérisées ; parmi eux, PER-7 est une variante dont l'activité hydrolytique vis-à-vis des C3G est bien supérieure. L'enzyme VEB-1 a été à l'origine d'une épidémie importante dans le Nord de la France au début des années 2000 et donné lieu à de nombreux signalements et programmes de lutte visant à empêcher la dissémination à l'ensemble du territoire français (Decré, 2012).

- La résistance aux carbapénèmes

L'imipénème, ou encore le méropénème sont commercialisés depuis plus de 15 ans et restent souvent comme dernier recours thérapeutique et étaient considérés comme traitement de choix des infections à *A. baumannii*. Cependant cette place est mise en cause, suite à la découverte d'enzymes nouvelles, dont la plupart sont transférables (Khaldi, 2016).

Les métallo bêta-lactamases donnent une résistance élevée aux carbapénèmes ainsi qu'à toutes les autres bêta-lactamines à l'exception de l'aztréonam. Elles posent un réel problème de santé publique comme le NDM-1 par leur grande capacité de dissémination.

Chez *A. baumannii*, les carbapénèmases sont essentiellement des enzymes particulières à cette espèce (oxacillinases de types OXA23, OXA40, OXA 58). Cette résistance aux carbapénèmes associe souvent la production de carbapénèmases à une imperméabilité membranaire expliquant le haut niveau de résistance aux antibiotiques (**Khaldi, 2016**).

b) Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est due à l'acquisition d'éléments génétiquement mobiles (plasmides, d'intégrons ou de transposons) responsables de la production d'enzymes modificatrices inactivant les aminosides. La résistance aux aminosides a également été associée à l'expression de systèmes d'efflux actifs. Récemment, la méthylation de l'ARNr 16S par l'acquisition de gènes codant des méthylases par l'*A. baumannii* a été décrite à travers le monde et ce processus rend inactifs tous les aminosides à l'exception de la streptomycine, la spectinomycine et la néomycine (**Khaldi, 2016**).

c) Résistance aux quinolones

La résistance aux fluoroquinolones est apparue suite à la généralisation du recours à ces antibiotiques en thérapeutique et les mécanismes de résistances décrits sont liés à des mutations dans la cible des quinolones que sont les topo-isomérases de type II. Des systèmes d'efflux contribuent également à la résistance aux fluoroquinolones (**Khaldi, 2016**).

d) Résistance aux autres antibiotiques

Acinetobacter est naturellement résistant à bas niveau au triméthoprim (CMI = 16-32 mg/L). La résistance à haut niveau est due à l'acquisition d'un gène de résistance, *dhfrI*, porté par un plasmide qui porte également des gènes de résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la kanamycine, à la streptomycine et au sulfaméthoxazole. La résistance au triméthoprim est également associée à l'expression des systèmes d'efflux de type RND AdeABC et AdeIJK par *A. baumannii* (**Figueiredo, 2011**).

5. Prévention du risque infectieux en réanimation et mesures de base

5.1. Précautions standards

5.1.1. Hygiène des mains

Le rôle des mains dans la transmission des infections nosocomiales a été largement démontré et peut être réduit par une hygiène appropriée (OMS,2002).

L'hygiène des mains par friction avec un produit hydro alcoolique est actuellement recommandée comme méthode de substitution au lavage traditionnel (Girou,2006).

5.1.2. Port des gants

Les gants représentent une barrière efficace contre la transmission croisée des germes, en particulier lors d'épidémies. Ils réduisent le niveau de contamination des mains par la flore acquise au cours des soins. Le port des gants est largement répandu lors des activités de soins, mais pas toujours dans des situations où il est indiqué (Girou,2006).

5.1.3. Masque

Le masque chirurgical est destiné à éviter, lors de l'expiration de celui qui le porte, la projection de sécrétions des voies aériennes supérieures ou de salive pouvant contenir des agents infectieux. Il protège également celui qui le porte contre les agents infectieux transmissibles par voie « gouttelettes » (Dali, 2015).

5.1.4. Tenue professionnelle

La tenue professionnelle remplace la tenue de ville ; elle sert à protéger les professionnels de santé conformément au code du travail. Les manches des tenues sont courtes pour permettre une bonne technique d'hygiène des mains (Dali,2015).

5.2. Stratégies de surveillance, de prévention et d'élimination de la transmission des infections à *Acinetobacter baumannii* dans les établissements de santé

5.2.1. Surveillance des infections à *A. baumannii* multirésistant

Le programme de surveillance des infections à *A. baumannii* multirésistant fournit les définitions, les mesures et l'analyse des données nécessaires pour évaluer le succès des

programmes de prévention et de contrôle des infections et des interventions intensifiées appropriées pour éliminer la transmission des infections à *A. baumannii* multirésistant.

a) Objectifs de surveillance infections à *A. baumannii* multirésistant

La surveillance infections à *A. baumannii multirésistant* consiste à :

- Réduire des infections à *A. baumannii* multirésistant et leurs coûts ;
- Améliorer la prise de conscience des personnels soignants du problème des infections à *A. baumannii* multirésistant, de façon qu'ils perçoivent la nécessité des mesures préventives ;
- Surveiller les tendances : l'incidence et la prévalence ;
- Identifier la nécessité de nouveaux programmes de prévention ;
- Renforcer et évaluer l'impact des mesures préventives ;
- Identifier les domaines possibles d'amélioration des soins et d'élargissement des études épidémiologiques (Uwingabiye, 2018).

b) Caractéristiques d'un système de surveillance des infections à *A. baumannii* multirésistant

Les caractéristiques du système sont principalement la ponctualité, la simplicité, la flexibilité, l'acceptabilité, le coût raisonnable et la représentativité (ou exhaustivité). La qualité des données fournies dépend de la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive (positive et négative) et l'utilité par rapport aux objectifs de la surveillance (indicateurs de qualité) (Uwingabiye, 2018).

c) Principes de base de la surveillance des infections à *A. baumannii* multirésistant

La surveillance nécessite un processus organisé de collecte des données. Les informations collectées sont ensuite évaluées, analysées et rapportées aux personnes, aux comités, aux agences et / ou au gouvernement concernés si nécessaire. Les éléments d'un programme de surveillance de routine comprennent d'une part la sélection de la méthodologie de surveillance, et d'autre part, la définition de la ou des population (s) à étudier (Uwingabiye, 2018).

Matériels et méthodes

1. Lieu d'étude

Cette étude a été menée au sein du laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) « BENBAATOUCHE ABDELALI ».

2. Période d'étude

Il s'agit d'une étude qui a été réalisée sur une période de 3 ans, s'étalant du 1 janvier 2018 au 11 mars 2020.

La période de stage est d'un mois, s'étalant du 11 février 2020 au 11 mars 2020.

3. Type d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective. Les données ont été recueillies à partir des registres du laboratoire de microbiologie de l'HMRUC.

4. Nature des prélèvements étudiés

Les souches ont été isolées à partir de différents prélèvements reçus et traités au laboratoire durant cette période d'étude : pus, urines, cathéters, sondes vésicales, hémocultures, prélèvements respiratoires, liquides de ponctions (liquide céphalo-rachidien, d'ascite, pleural, articulaire), etc.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement sur laquelle sont mentionnées les informations relatives à chaque malade (nom, prénom, âge, sexe, service d'hospitalisation, nature du prélèvement, signes cliniques et traitement antibiotique administré) (voir annexe 1).

5. Services originaires des souches bactériennes

Les prélèvements ont été effectués au niveau du service de réanimation de l'HMRUC. Parmi ces prélèvements, un total de 3 souches d'*Acinetobacter* a été trouvé : *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus* et *Acinetobacter sp.*

6. Méthode

La recherche d'*Acinetobacter* dépend de la nature du prélèvement traité.

6.1. Analyse cyto bactériologique

6.1.1. Prélèvement distale protégé (PDP)

Ce prélèvement est réservé aux malades intubés en service de réanimation, les sécrétions bronchiques sont aspirées avec un double cathéter protégé introduit dans l'arbre trachéo-bronchique puis placées dans un tube stérile.

Technique :

1^{er} jour :

- **Appréciation macroscopique :** clair, trouble, purulent ou hémorragique.

- **Examen microscopique :** à partir du prélèvement, prélever une parcelle purulente, et l'étaler d'une façon homogène sur une lame propre, laisser sécher, puis fixer le frottis et colorer au bleu de méthylène. La lecture se fait au microscope optique X 100 par numération de polynucléaires (PN)/champ, noter l'absence ou la présence de bactéries (forme, disposition et abondance).

- Mise en culture :

Culture directe : à partir du prélèvement, ensemercer les milieux : gélose chocolat, gélose nutritive et gélose Hektoen.

Culture après dilutions : réaliser des dilutions du prélèvement en eau physiologique de 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} . A partir de chaque dilution, ensemercer les boîtes par deux gouttes à étaler en quatre quadrants. Incuber les boîtes à 37 °C et à 37 °C + CO₂ (pour la gélose chocolat).

2^{ème} jour :

- Lecture et interprétation :

- Si la culture est négative : ré-incuber les boîtes jusqu'à 48 heures.
- Si la culture est positive : compter le nombre de colonies identiques dans chaque boîte correspondant aux dilutions 10^{-2} et 10^{-4} (nombre de colonies X inverse de la dilution X 10 = nombre UFC/ml). Si le nombre $> 10^3$ UFC/ml : identifier le germe + antibiogramme, Si le nombre $< 10^3$ UFC/ml, répondre : une numération bactérienne $< 10^3$ UFC/ml (ne pas procéder à une identification et un antibiogramme).
- Si la flore microbienne est polymorphe, discuter l'éventualité d'identifier des bactéries pathogènes dont le seuil est $> 10^3$ UFC/ml.

3^{ème} jour :

- Lecture des boîtes ré-incubées :

- Si la culture est négative : numération bactérienne $< 10^3$ UFC/ml.
- Si la culture est positive : procéder à la méthode d'identification de 2^{ème} jour.

6.1.2. Urine

Il existe les deux cas suivants :

a) Patient non sondé : le prélèvement se fait par recueil des urines de la première miction le matin, après une désinfection locale, et au milieu du jet dans un pot stérile.

b) Patient sondé : une désinfection du point de ponction sur la sonde est effectuée avec un antiseptique suivie d'une ponction de 5 à 10 ml d'urine à travers l'opercule.

Technique :

1^{er} jour :

- Appréciation macroscopique : clair, trouble, hématurique.

- **Examen microscopique :** La numération cellulaire permet l'orientation du diagnostic. C'est une étape très importante dans l'ECBU. La numération se fait sur les cellules de Nageotte. Le but de cet examen est le dénombrement des leucocytes, des polynucléaires, recherche des hématies, des cellules épithéliales, levures, cristaux et présence ou absence de bactéries.

- **Mise en culture :** homogénéiser le prélèvement d'urine puis ensemercer l'urine sur les boîtes de GN et CLED (Déficiente en Electrolyte, Lactose et Cystine) selon la méthode des quatre quadrants. Incuber les boîtes à 37 °C / 18 à 24h.

2^{ème} jour :

La lecture des boîtes ensemencées.

6.1.3. Hémoculture

C'est l'identification de l'agent bactérien causal par mise en culture d'un prélèvement de sang. Le prélèvement sanguin est réalisé durant les pics fibrilles, 8 à 10 ml de sang sont prélevés chez l'adulte et injectés dans des flacons anaérobies et aérobie respectivement en dehors de tout traitement antibiotique ; si le malade est sous traitement antibiotique, il doit faire une fenêtre thérapeutique de 24h – 72h.

Technique :

1^{er} jour :

Incuber les flacons du sang reçus le jour même à 37 °C pendant 48h puis faire un repiquage en ensemençant quelques gouttes (technique des quatre quadrants) sur les boîtes gélose chocolat et Hektoen. Incuber à 37 °C pendant 24h. Après l'incubation, lecture des boîtes.

- Si la culture est positive : identifier le germe + antibiogramme.
- Si la culture est négative : incuber les flacons pendant 8 jours puis observer les flacons ré-incubés.
- Si le résultat est positif : le germe sera identifié + antibiogramme.
- Si le résultat est négatif : on conclura avec une absence de germes.

NB : Dans le cas de brucellose ou bien endocardite (à streptocoque), le flacon est incubé à 37 °C pendant 1 mois.

6.1.4. Cathéter et sonde vésicale

L'insertion d'une partie des cathéters (KT) à travers la peau, expose ces dispositifs à un risque de colonisation par des microorganismes de la flore cutanée résidente, pouvant déboucher sur une infection. Le cathéter (centrale/périphérique) à analyser est découpé sur une longueur de 5 cm et mis dans un tube stérile, qui sera ensuite transporté au laboratoire.

Technique :

1^{er} jour :

- Ajouter 1 ml de bouillon cœur-cerveille (BCC : milieu d'enrichissement) dans le tube de KT, bien agiter.
- Ensemencer deux gouttes sur gélose au sang cuit (chocolat) et Hektoen, (par la technique des quatre quadrants).
- Incuber les boîtes à 37 °C + CO₂ (chocolat) et à 37 °C (Hektoen) pendant 24h.

2^{ème} jour :

Effectuer une 1^{ère} lecture à 24 heures :

- Si la culture est négative : ré-incuber les boîtes pendant 48 heures.
- Si la culture est positive : compter le nombre de colonies identiques / boîtes.

3^{ème} jour :

Lecture des boîtes ré-incubées :

- Si la culture est positive : on donne les résultats de numération bactérienne.
- Si la culture est négative : on note l'absence des germes.

NB : la composition des différents milieux de culture utilisés est décrite dans l'annexe 2.

6.2. Identification bactérienne

Le diagnostic bactériologique est réalisé en plusieurs étapes :

6.2.1. Appréciation macroscopique

Elle permet d'observer l'aspect, le contour, la surface, le relief, la taille, l'odeur, la couleur, la consistance des colonies et le virage des milieux de cultures sélectives utilisés.

6.2.2. Examen microscopique

Il est réalisé par une simple coloration de Gram. Cette méthode repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Technique :

Elle est réalisée suivant les étapes décrites dans l'annexe 3.

Lecture :

Lire à l'objectif X100 à l'aide de l'huile à immersion. On peut observer deux types de cellules : les bactéries à Gram négatif sont de couleur rose et les bactéries à Gram positif sont colorées en violet.

6.2.3. Identification biochimique après la culture

L'identification des caractères biochimiques est effectuée à l'aide de galerie biochimique (API 20 E) suite à un test préliminaire (test d'oxydase).

a) Test d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase. L'oxydase est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydoréduction impliquant une molécule de dioxygène (O₂) comme accepteur d'électrons. Sa présence ou son absence représente un des critères systématiques les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des BGN. Elle consiste à mettre en évidence le caractère oxydase négatif chez *Acinetobacter*.

Technique :

La mise en évidence de l'oxydase a été faite selon la méthode des disques d'oxydase qui consiste à :

- Déposer sur une lame un disque d'oxydase.
- A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie de la bactérie à identifier et écraser sur le papier.

Lecture :

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé. Si la couleur du papier ne change pas, la souche est donc oxydase négatif.

Les isolats oxydase négative ont été retenus en vue de l'identification biochimique par l'utilisation de la galerie API 20 E.

b) La galerie API 20 E

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Technique :

• **Préparation de la galerie :**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

- Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h sur GN.

- **Ensemencement de la galerie API 20 E**

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air.

- Pour les caractères soulignés ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile (créer une anaérobiose).

- Pour les caractères encadrés VP, CIT, Gel, ensemercer le tubule et la cupule par la suspension.

- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension.

- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Lecture :

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (voir annexe 4).

6.3. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »

Les tests de sensibilité aux antibiotiques représentent la dernière étape de diagnostic microbiologique, ils permettent de dresser le profil de résistance d'une souche bactérienne, donné nécessaire à l'antibiothérapie.

Il a été réalisé selon la méthode diffusion en milieu gélosé, méthode des disques (antibiogramme standard). Les antibiogrammes des souches *Acinetobacter baumannii* ont été réalisés sur des boîtes de Muller-Hinton (MH). La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

6.3.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement approprié, raclé à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse ou la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Homogénéiser la suspension bactérienne.

6.3.2. Ensemencement

L'ensemencement se fait sur gélose MH, préalablement coulée en boîtes de Pétri (épaisseur de 4 mm), et séchées. Il est réalisé par la méthode d'écouvillonnage comme suit :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- Ensemencer la boîte de Mueller-Hinton, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 minutes.

6.3.3. Choix des antibiotiques

Les listes des antibiotiques testés sur *Acinetobacter* sont présentées dans l'annexe 5.

6.3.4. Application des disques et incubation

- Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement.
- Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement.
- On dépose 6 ou 7 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm et ne pas déplacer les disques après application.
- Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres.

- Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 min, puis incuber dans l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24h (couverture en bas).

6.3.5. Lecture et interprétation

- À l'aide d'un pied à coulisse ou par une règle graduée, les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés.

- Chaque disque a une concentration minimale inhibitrice, caractérisée par un diamètre d'inhibition, la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant : Si le diamètre de la zone d'inhibition est $\geq D$: la souche est dite sensible (S).

Si le diamètre de la zone d'inhibition est $< d$: la souche est dite résistante (R).

Si $d \leq$ diamètre de la zone d'inhibition est $< D$: la souche est dite intermédiaire (I).

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques standards (voir l'annexe 6).

Résultats et discussion

1. Identification bactérienne

1.1. Aspect macroscopique

Les colonies d'*Acinetobacter* sur Hektoen (figure 4, ci-dessous) apparaissent petites, lisses, arrondies, circulaires, convexes ayant une coloration bleu-vert (absence de la fermentation du lactose) dégageant une odeur caractéristique. L'aspect des colonies d'*Acinetobacter* sur gélose nutritive et sur gélose au sang cuit (Chocolat) est représenté dans les figures 5 et 6, respectivement.



Figure 4 : culture d'*Acinetobacter* sur milieu Hektoen.

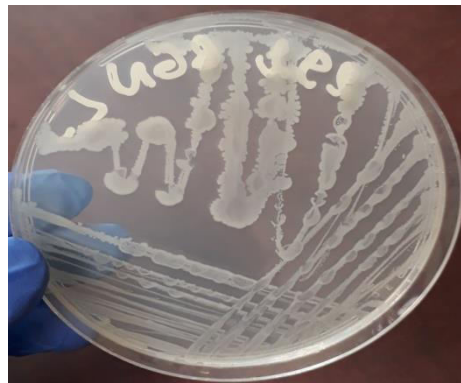


Figure 5 : culture d'*Acinetobacter* sur gélose nutritive (GN).



Figure 6 : culture d'*Acinetobacter* sur gélose au sang cuit (Chocolat).

1.2. Aspect microscopique

L'examen à l'état frais a permis de mettre en évidence l'immobilité d'*Acinetobacter*.

L'observation après coloration de Gram au (G x 1000), montre que les cellules d'*Acinetobacter* se présentent sous forme de coccobacilles à Gram négatif (figure 7, ci-dessous).

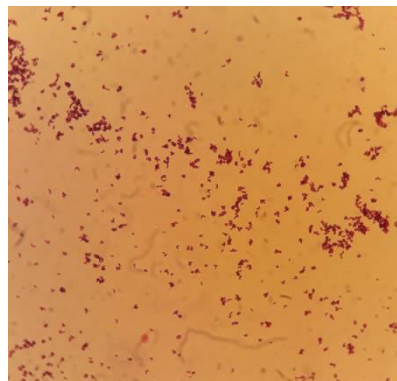


Figure 7 : coloration de Gram des cellules d'*Acinetobacter*.

Les *Acinetobacter* sont regroupés soit comme des diplo-coccobacilles à Gram négatif, soit associés en paires ou en courtes chainettes. Ils sont immobiles et non sporulés. Trente pour cent des souches d'*Acinetobacter baumannii* possèdent une capsule, que l'on peut identifier à la coloration de Gram par le halo clair qui entoure la bactérie. Celui-ci prend un aspect de diplocoque à Gram variable et on note la présence d'un halo clair autour du corps bactérien qui représente la capsule (Hidri, 2012).

Ces organismes sont souvent difficiles à décolorer et, en tant que tels, sont souvent incorrectement identifiés comme Gram-positifs (ils sont considérés à Gram variable). L'examen direct mettant en cause des *Acinetobacter* peut être à l'origine de difficultés. En effet, ces bactéries peuvent apparaître à Gram positif et être confondues avec les staphylocoques. Pour ajouter à la confusion, *Acinetobacter baumannii* a parfois été nommé « *Staphylococcus aureus* à Gram négatif » en raison de son comportement en milieu hospitalier (Hidri, 2012).

1.3. Identification biochimique

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (voir annexe 4).

Si trois tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- **Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- **Test IND** : ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- **Test VP** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à trois :

- Réincuber la galerie 24 heures (plus ou moins 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.

- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- Compléter l'identification, par détermination du profil numérique (7 chiffres) qui est obtenu sur la fiche de résultats (figure 8, ci-dessous), à partir des tests qui sont séparés par groupes trois : 1,2 ou 4 est indiquée pour chacun.

- A l'aide des catalogues analytiques, rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

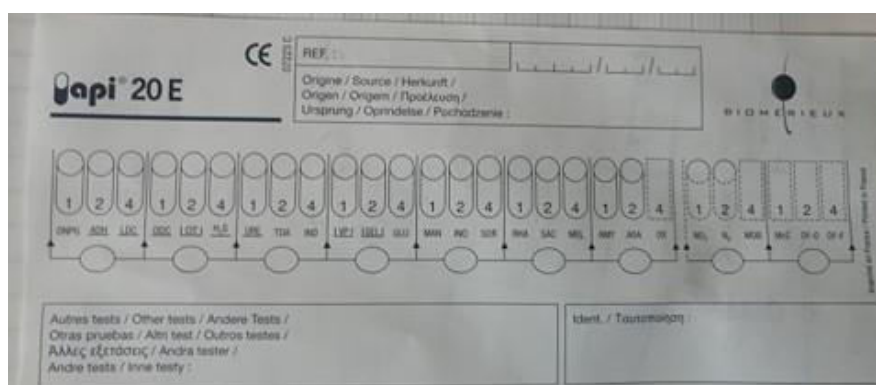


Figure 8 : fiche de résultat de la galerie API 20 E.

Les résultats de la galerie API 20 E n'ont pas pu être exploités en raison de l'arrêt du stage (pandémie covid-19).

2. Détermination du profil d'antibiorésistance

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Les diamètres critiques sont définis pour chaque antibiotique par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Les diamètres d'inhibition autour des disques (figure 9, ci-dessous) sont mesurés à l'aide d'une règle, puis ils sont comparés aux diamètres critiques rassemblés dans l'annexe 6. Il convient de noter toutefois sur une fiche de résultat d'antibiogramme (voir annexe 5), qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut-être déclarée "sensible (S), résistante (R), (I) intermédiaire".



Figure 9 : antibiogramme d'*Acinetobacter baumannii*.

Les résultats des antibiogrammes effectués pour les 36 souches bactériennes (sur un total de 54) appartenant au genre *Acinetobacter* (durant la période d'étude allant du 01 janvier 2018 au 11 mars 2020), sont illustrés dans les tableaux suivants :

NB : une seule souche d'*Acinetobacter* (identifiée par la galerie API 20 E comme étant *A. baumannii*) a été isolée au cours de l'année 2020 (durant le stage). Les résultats du profil d'antibiorésistance sont représentés dans la figure 9 (ci-dessus) et le tableau 4 (en gras, ci-dessous).

Tableau 3 : profil de la sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter sp.*

	Pénicillines				Aminosides				Céphalosporines			Qn/Fqn		Monobactames	Carbapénames			Divers				
	TIC	TCC	PIP	TZP	AK	GN	TOB	NET	CAZ	FEP	CPO	CIP	LVX	ATM /AO	IPM	MER	DOR	CT	RA	FOS	DO	SXT
PDP	R	R	R	R	R	R	R	R	R					R	R			S				
	R	R	R	R	S	R		R	R			R	R	R	R			S	S	R	R	R
	R	R	R	R	R	R		R	R			R	R	R	R			S	S	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R	R	R			R	R	R	R			S	S	R		R
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R		R		R	R			S	S	R	
Urine	R	R	R	R	R	R		R	R			R	R	R	R			S	S	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R	R	R			R	R	R	R			S				
	S	S	S	S	S	S		S	S			S		S	S			S	S	R	S	R
	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R		R	R			S	R	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R	R	R			R		R	R			S	R		R	R
Sonde	R	R	R	R	S	R		R	R			R	R	R	R			S				
	R	R	R	R	R	R		R	R					R	R			S	S	R		
	R	R	R	R	R	R		S	R					R	R			S	S	R	R	R
	R	R	R	R	S	R		R	R			R	R	R	R			S				
	R	R	R	R	R	R			R			R	R	R	R			S	S	R	R	
KT	R	R	R	R	R	R		R	R			R	R	R	R			S				R
	R	R	R	R	S	S		S	R			R	R	R	R			S				
	R	R	R	R	R	R			R					R	R			S				
Hémoculture	R	R	R	R			S	S	R			R	R	R	R			S	S			
	R	R	R	R	R	R	R	R	R			R	R	R	R			S	S	R	R	R
	R	R	R	R	R	R			R			R	R	R	R			S	R			

Tableau 4 : profil de la sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii*.

	Pénicillines				Aminosides				Céphalosporines			Qn/Fqn		Monobactames	Carbapénames			Divers				
	TIC	TCC	PIP	TZP	AK	GN	TOB	NET	CAZ	FEP	CPO	CIP	LVX	ATM/AO	IMP	MER	DOR	CT	RA	FOS	DO	SXT
PDP	R	R	R	R	S	R			R	R		R	R	R	R	R	R	S	R		R	R
	R	R	R	R	S				R	R	R			R	R	R	R	S				
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R			S	R	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R			R	R	R			R			S				
	R	R	R	R	R	R			R	R		R	R	R	R	R		S	R	R	R	R
	R	R	R	R	R	R		R	R			R	R	R	R			S	S	R	R	R
	R	R	R	R	R	R				R	R	R			R			S				

Tableau 5 : profil de la sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter calcoaceticus*.

	Pénicillines				Aminosides				Céphalosporines			Qn/Fqn		Monobactames	Carbapénames			Divers				
	TIC	TCC	PIP	TZP	AK	GN	TOB	NET	CAZ	FEP	CPO	CIP	LVX	ATM/AO	IMP	MER	DOR	CT	RA	FOS	DO	SXT
PDP	S	S	S	S	S	S		S	S		S	S	S	R			S	S		S		
	R	R	R	R		R		R	R	R		R	R	R				S	S			R
	R	R	R	R		S		S	R			R	R	R	R			S	S			R
	R	R	R	R	R	R	R	R	R			R	R	R				S	S	S		
	R	R	R	R	R				R			R	R	R	R			S	S			
Sonde	R	R	R	R	R	R			R			R	R	R	R			S	S	R		
KT	R	R	R	R	R	R			R					R	R			S				

Qn : Quinolones, Fqn : Fluoroquinolones, TIC : Ticarcilline, TCC : Ticarcilline-acide clavulanique, PIP : Pipéracilline, TZP : Pipéracilline-acide clavulanique, AK : Amikacine, GN : Gentamicine, TOB : Tobramycine, NET : Nétilmicine, CAZ : Ceftazidime, FEP : Céfépime, CPO : Cefpirome, CIP : Ciproflaxacine, LVX : Lévoflaxacine, ATM : Aztréonam, IMP : Imipénème, Mer : Méropénème, DOR : Doripénème, CT : Colistine, RA : Rifampicine, FOS : Fosfomycine, DO : Doxycycline, SXT : Triméthoprine-Sulfaméthoxazole.

R : Résistant, S : Sensible

Les 36 souches d'*Acinetobacter* ont été testées vis-à-vis de 22 antibiotiques. Ces molécules appartiennent à six familles : pénicillines (4 molécules), aminosides (4 molécules), céphalosporines (3 molécules), quinolones/fluoroquinolones (2 molécules), carbapénèmes (3 molécules) et monobactames (une seule molécule). Plus 5 autres antibiotiques ne faisant pas partie de ces familles (colistine, doxycycline, fosfomycine et triméthoprim-sulfaméthoxazole).

Au cours de notre étude, une évolution importante de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter* a été constatée. Cette dernière est due principalement à la capacité du genre *Acinetobacter* à prospérer dans les milieux hospitaliers et à acquérir rapidement des mécanismes de résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques. Ces résultats sont confirmés par **Uwingabiye (2018)** qui a aussi trouvé que les isolats d'*Acinetobacter* sont connus pour leur résistance à divers antibiotiques, et le taux de résistance aux antibiotiques est généralement élevé.

La totalité des souches isolées : *Acinetobacter sp.* et *Acinetobacter baumannii* sont sensibles à la colistine, un résultat semblable a été mentionné par **Fomba (2006)**, et une étude de **Uwingabiye (2018)** montre aussi que la colistine (polymyxine E) était l'antibiotique le plus actif contre *Acinetobacter*.

3. Les répartitions du genre *Acinetobacter* dans le service de réanimation selon plusieurs facteurs

3.1. Répartition des prélèvements selon le sexe

Tableau 6 : répartition globale des populations selon le sexe.

Sexe	2018 (J-D)		2019 (J-D)		2020 (J-M)		Totale	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Femmes	4	4,41	14	25,93	0	0	18	33,33
Hommes	18	33,33	17	31,48	1	1,85	36	66,66
Total	22	40,47	31	57,41	1	1,85	54	100

J : Janvier, D : Décembre, M : Mars, N : Nombre.

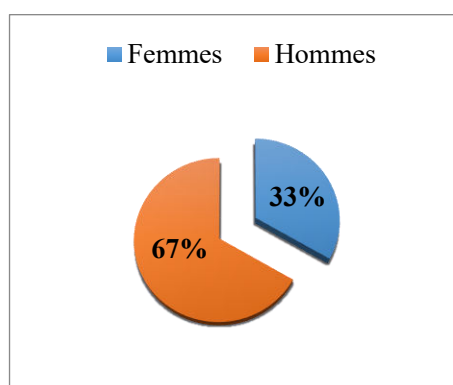


Figure 10 : répartition globale selon le sexe.

Les infections à *Acinetobacter* dans le service de réanimation ont été plus fréquentes chez la population masculine que féminine (figure 10, ci-dessus), avec une fréquence de 66,66% (N = 36), le sexe ratio (Homme/Femme) = 2, ce qui signifie que le nombre des hommes infectés est le double de celui des femmes. Ces résultats sont expliqués par la prédominance des hommes au niveau du service et ils concordent avec ceux de **Khaldi (2016)** ; qui a mené une étude épidémiologique sur l'infection à *Acinetobacter baumannii* au CHU de Marrakech.

3.2. Répartition des prélèvements selon la tranche d'âge

Tableau 7 : répartition globale des prélèvements positifs aux *Acinetobacter* selon la tranche d'âge.

Tranche d'âge	2018 (J-D)		2019 (J-D)		2020 (J-M)		Totale	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<20	0	0	2	12,5	1	1,85	3	18,75
21-40	2	12,5	5	31,25	0	0	7	43,75
41-80	3	15,75	2	12,5	0	0	5	31,25
>80	0	0	1	6,25	0	0	1	6,25

J : Janvier, D : Décembre, M : Mars, N : Nombre.

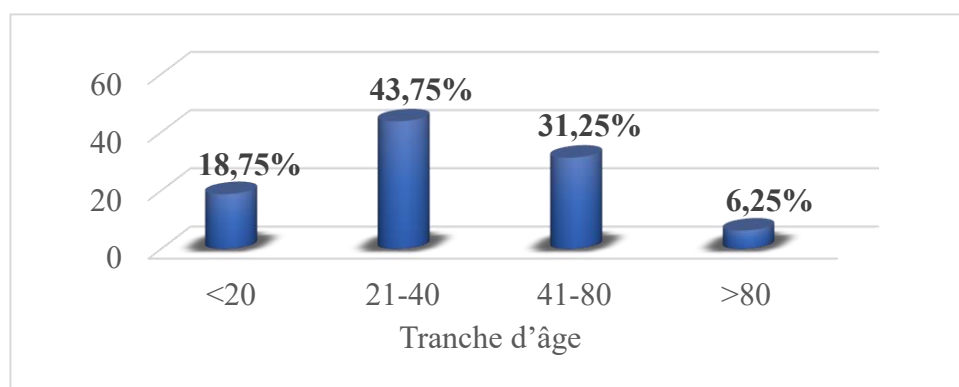


Figure 11 : répartition globale des prélèvements positifs aux *Acinetobacter* selon la tranche d'âge.

D'après le tableau 7 et la figure 11 (ci-dessus), la majorité des souches d'*Acinetobacter* ont été isolées chez des sujets adultes dont l'âge est entre 21 et 40 ans, ce qui représente 43,75% des cas (N = 7). Elle est suivie par la tranche d'âge entre 41 et 80 ans, ce qui représente 31,25% (N = 5). Seulement 18,75% (N = 3) des isolats d'*Acinetobacter* proviennent de prélèvements réalisés chez des jeunes de moins de 20 ans.

Dans notre étude, l'âge moyen des sujets atteints d'infection à *Acinetobacter* est de 42 ans avec des extrêmes allant de 18 ans jusqu'à 82 ans.

Contrairement à notre étude, une fréquence d'isolement élevée d'*Acinetobacter* a été constatée chez les patients de la tranche d'âge ≥ 60 ans dans la plupart des autres travaux (Chatellier *et al.*, 2007 ; Zegmout *et al.*, 2017). Ceci a été expliqué par la vulnérabilité des

personnes âgées, en effet ce sont des sujets qui présentent un terrain d'immunodépression non négligeable.

Nos résultats ne sont pas en concordances avec les données de la littérature et ne renforcent pas le caractère opportuniste de ce germe, à cause du manque des informations dans les fiches de renseignements des patients infectés par *Acinetobacter*.

3.3. Répartition globale d'*Acinetobacter* selon la nature du prélèvement

Tableau 8 : répartition globale d'*Acinetobacter* selon la nature du prélèvement.

Type de prélèvement	2018 (J-D)		2019 (J-D)		2020 (J-D)		Totale	
	N	%	N	%	N	%	N	%
PDP	19	35,19	17	31,48	1	1,85	37	68,52
Urines	3	5,55	2	3,70	0	0	5	9,26
Sonde vésicale	5	9,26	1	1,85	0	0	6	11,11
KT	1	1,85	2	3,70	0	0	3	5,55
Hémoculture	3	5,55	0	0	0	0	3	5,55
Totale	31	57,41	22	40,74	1	1,85	54	100

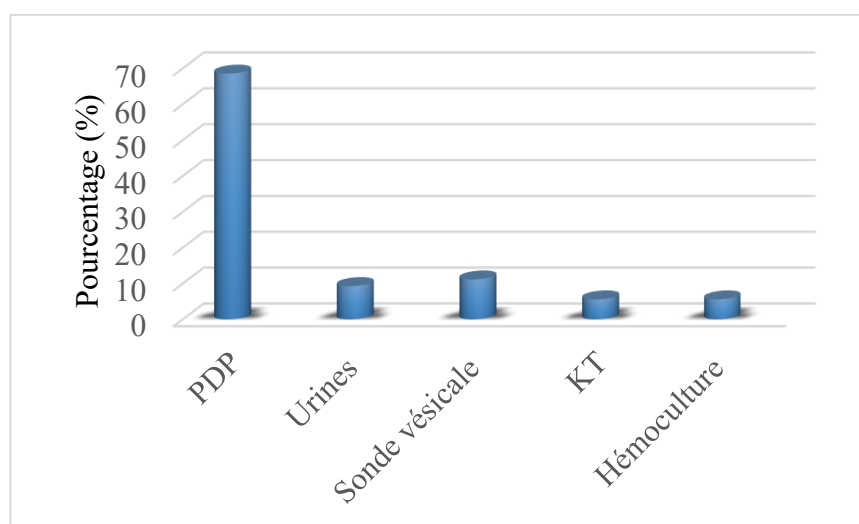


Figure 12 : répartition globale d'*Acinetobacter* selon la nature du prélèvement.

La répartition des isolats d'*Acinetobacter* selon la nature des prélèvements (tableau 8 et figure 12, ci-dessus) démontrent la prédominance des souches au niveau des prélèvements distaux protégés PDP (68,52%, N = 37), suivis par les sondes vésicales (11,11%, N = 6), les urines (9,26%, N = 5), les résultats les moins importants sont constatés avec les hémocultures et les cathéters KT. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Lahsoune *et al* (2007)**, qui a constaté que le principal site d'isolement de ces isolats était broncho-pulmonaire.

3.4. Répartition des espèces d'*Acinetobacter* selon la nature du prélèvement

Tableau 9 : répartition des espèces d'*Acinetobacter* selon la nature du prélèvement.

Type de prélèvement	Espèces bactériennes isolées	2018 (J-D)		2019 (J-D)		2020 (J-M)		Totale	
		N	%	N	%	N	%	N	%
PDP	<i>A. baumannii</i>	0	0	6	11,11	1	1,85	7	12,96
	<i>A. calcoaceticus</i>	4	7,41	1	1,85	0	0	5	9,26
	<i>Acinetobacter sp.</i>	13	24,04	12	22,22	0	0	25	46,26
Urines	<i>A. baumannii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>A. calcoaceticus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Acinetobacter sp.</i>	2	3,70	3	5,55	0	0	5	9,25
Sonde vésicale	<i>A. baumannii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>A. calcoaceticus</i>	0	0	1	1,85	0	0	1	1,85
	<i>Acinetobacter sp.</i>	1	1,85	4	7,41	0	0	5	9,26
KT	<i>A. baumannii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>A. calcoaceticus</i>	0	0	1	1,85	0	0	1	1,85
	<i>Acinetobacter sp.</i>	2	3,70	0	0	0	0	2	3,70
Hémoculture	<i>A. baumannii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>A. calcoaceticus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Acinetobacter sp.</i>	0	0	3	5,55	0	0	3	5,55
Totale		22	40,37	31	57,39	1	1,85	54	99,94

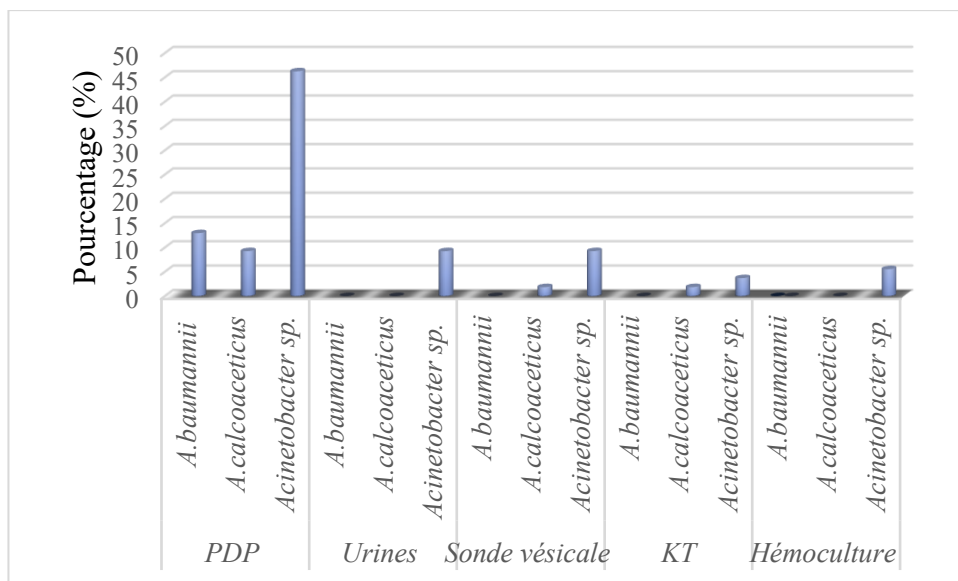


Figure 13 : répartition des espèces d'*Acinetobacter* selon la nature du prélèvement.

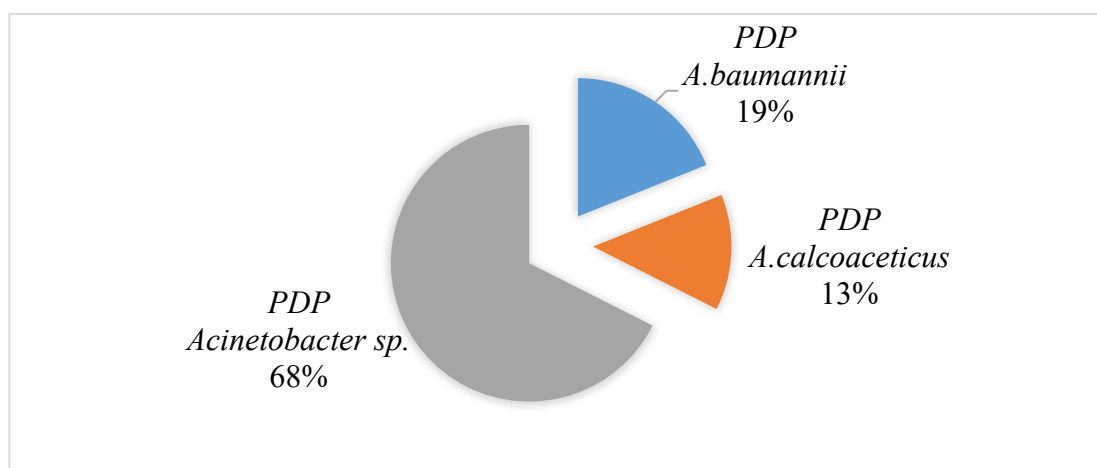


Figure 14 : les espèces du genre *Acinetobacter* isolées à partir de prélèvements distaux protégés (PDP).

Les résultats (figures 13 et 14, ci-dessus) révèlent la prédominance de l'espèce *Acinetobacter sp.* dans tous les prélèvements étudiés durant la période de 3 ans. Notre étude n'est pas en concordance avec l'étude de **Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin (2006)**. Cette dernière a montré que l'espèce la plus fréquente et la plus résistante était *Acinetobacter baumannii*. Bien que de pathogénicité limitée, ces bactéries se sont inscrites depuis 20 ans parmi les bactéries les plus redoutées des services de réanimation.

3.5. Répartition globale des espèces d'*Acinetobacter*

Tableau 10 : répartition globale des espèces d'*Acinetobacter* isolées dans le service de réanimation.

Type bactérienne	2018 (J-D)		2019 (J-D)		2020 (J-M)		Totale	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>A. baumannii</i>	0	0	6	11,11	1	1,25	7	12,96
<i>A. calcoaceticus</i>	4	7,41	3	5,55	0	0	7	12,96
<i>Acinetobacter sp.</i>	18	33,33	22	40,74	0	0	40	74,02
Totale	22	40,74	31	57,41	1	1,85	54	100

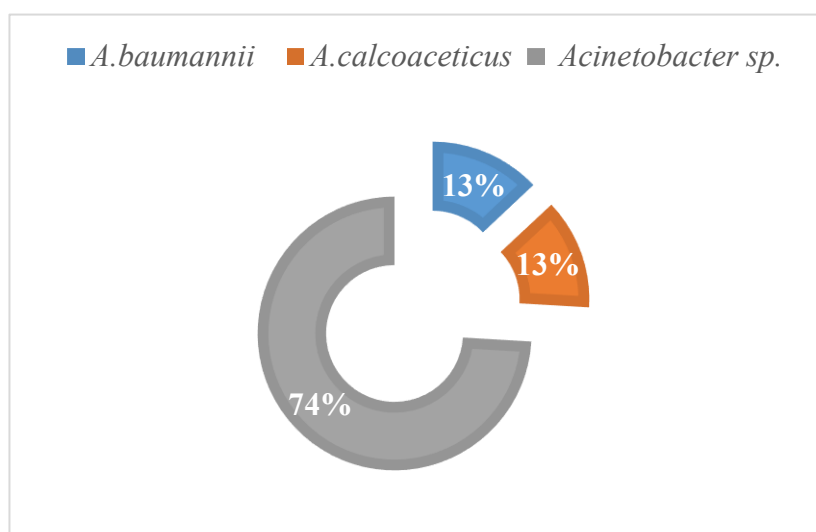


Figure 15 : répartition globale des espèces d'*Acinetobacter* isolées dans le service de réanimation.

Durant notre période d'étude, la répartition des espèces d'*Acinetobacter* dans le service de la réanimation a relevé la présence de trois types d'espèces : *Acinetobacter sp.*, *Acinetobacter baumannii* et *Acinetobacter calcoaceticus*. La distribution totale des espèces isolées, montre qu'*Acinetobacter sp.* occupe la première place, dont la fréquence est de 74,02 % (N = 40). Elle est suivie par les deux autres espèces qui ont une fréquence de 12,96 % (N = 7).

Durant l'année 2018, le taux d'*Acinetobacter sp.* isolées par rapport aux autres souches hospitalières était de 33,33 %. Et ce taux ne cesse d'augmenter, il a atteint 40,74 % en 2019. Et cette année (2020), aucune espèce *Acinetobacter sp* n'a été isolée (sachant que notre stage a été interrompu au mois de Mars à cause de la pandémie Covid-19).

Conclusion

Dans cette étude, il a été démontré que l'*Acinetobacter* tient une place importante au sein des germes opportunistes émergents.

En effet, bien que son pouvoir pathogène soit réduit, cette bactérie est devenue un casse tête thérapeutique non négligeable vu l'ampleur des infections nosocomiales qu'elle peut provoquer dans les unités de soins intensifs sur des patients fragiles porteurs de matériels invasifs ou présentant un terrain d'immunodépression.

Au terme de notre travail, un taux de 74,02 % d'*Acinetobacter sp.* est retrouvé dans le service de réanimation. Ces souches ont présenté une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques en particulier les pénicillines, les céphalosporines, carbapénèmes les quinolones/fluoroquinolones et les aminosides. Seules la rifampicine et la colistine gardent une excellente activité sur ces souches.

Dans notre étude, l'âge moyen des malades infectés est de 43 ans, avec une prédominance de sexe masculin 66,66% (le sexe ratio est de 2). On a démontré la prédominance des souches au niveau des prélèvements distaux protégés (PDP), avec un taux de 68,52%. La pathologie médicale reste le motif d'hospitalisation le plus fréquent.

Pour finir, il faut dire que l'actualisation des données locales sur le profil épidémiologique de ce germe pourra jouer un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie efficace pour l'instauration de bonnes pratiques d'hygiène hospitalière.

Références bibliographiques

AVRIL JL., DABERNAT H., DENIS F. et MONTEIL H. (2000). Bactériologie clinique. Paris : Ellipses, 602p.

AZZAM A. (2018). Evolution phylogénique de l'espèce *Acinetobacter baumannii* au CHU de Tizi-Ouzou et étude de sa résistance aux β -lactamines, aminosides et quinolones. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Université Mouloud MAMMARI, faculté de Médecine. Tizi-Ouzou. 27, 29, 30p.

BRUN-BUISSON. (2005). Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation : texte d'orientation SRLF/SFAR, Service de réanimation médicale. Hôpital Henri-Mondor. France. 465p.

CABROLIER N. et BERTRAND X. (2005). Epidémiologie et facteurs de risques des infections liées à *Pseudomonas aeruginosa* et des entérobactéries. International journal des sciences; 16 : 9p. Collège national des enseignants de réanimation médicale. Réanimation et urgences. Paris : Masson.

CHAHMOUT S. (2011). Pneumopathie nosocomiale à *Acinetobacter baumannii* En réanimation à propos de 155 prélèvements distaux protégés à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat, Thèse du Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Rabat. 19p.

CHATELLIERA D., BURUCOAB C., PINSARDA M., FRATA JP. et ROBERT R. (2007). Prévalence un jour donné du portage d'*Acinetobacter baumannii* chez les patients de 53 réanimations françaises. Service de réanimation médicale, CHU de Poitiers. France. 144p.

COOK JA., VANDERJAGT DJ., PASTUSZYN A., MOUNKAILA G., GLEW RS. et GLEW RH. (1998). Influence de la gestion des voies respiratoires sur la pneumonie à ventilation assistée : données probantes provenant d'essais randomisés. 279 : 781-7p.

DALI A. (2015). Infections nosocomiales à BMR en réanimation adulte à EHUO, Profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Département de Médecine. Université d'Oran 1 Ahmed BENBELLA. 36p.

DECRE D. (2012). *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. Revue Francophone Des Laboratoires. 441 : 44, 45p.

FIGUEIREDO S. (2011). *Acinetobacter spp.* et réservoir de gènes de carbapénèmases, Médecine humaine et Pathologie. Thèse de Doctorat. Université Paris Sud - Paris XI. 31, 36, 48p.

FLANDROIS JP. (1997). Bactériologie Médicale. Presses Universitaires de Lyon. 309p.

FOMBA M. (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* à coagulase négative à l'hôpital du point g. Thèse du Doctorat en Pharmacie, Université De Bamako. Mali. 21p.

GIROU E. (2006). Simplification des mesures d'hygiène dans la prévention des infections nosocomiales. Réanimation. Unité de contrôle, épidémiologie et prévention de l'infection (CEPI), CHU Albert-Chenevier–Henri-Mondor, 51, b. Faculté de Médecine. Université Paris 12. France. 195p.

HIDRI N. (2012). Identification d'*Acinetobacter spp.* au laboratoire. Revue Francophone Des Laboratoires. 441 : 38, 40p.

JOLY-GUILLOU M. L. et BERGOGNE-BEREZINE. (2006). Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : leur importance actuelle. CHU Angers. Paris. 95p.

KHALDI H. (2016). Epidémiologie de l'infection à *Acinetobacter baumannii* au CHU de Marrakech. Thèse de Doctorat en Médecine. Université CADI AYYAD. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Marrakech.

LAHSOUNE M., BOUTAYEB H., ZEROUALI K., BELABBES H. et EL MDAGHRI N. (2007). Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. Laboratoire de microbiologie, faculté de médecine et de pharmacie, 19, rue Tarik-Bnou-Zyad, Casablanca, Maroc. 830p.

MANGIN L. (2016). Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Lorraine. 5, 6p.

NASIRIANI K. (2016). The effect of brushing with a soft toothbrush and distilled water on the incidence of ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit. *Tanaffos*, 15 : 101-107p.

OMS : Organisation mondiale de la santé (2002). Prévention des infections nosocomiales : guide pratique. Deuxième édition : 34p.

OUBIHI B. (2015). Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. Thèse de Doctorat en Médecine. Université CADI AYYAD. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Marrakech. 34p.

PAOLOZZI L. et LIEBART J. C. (2015). Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus. Paris. 453p.

QASSIMI L. (2010). Épidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation (A propos de 147 cas). Thèse de Doctorat en Médecine, Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Fès. 8p.

RAMDANI B. N., SEGHER M., BELOUNI R. et BENSLIMAN A. (2009). Manuel de microbiologie. Alger : Les presses de l'office des publications universitaires. 91, 92p.

RICARD J. D. (2007). Prévention des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique comment l'améliorer ?. Service de réanimation médicale, hôpital Louis-Mourier. Paris. France. 250p.

RIVIERE H. (1995). *Acinetibacter baumannii* : Sensibilité aux antibiotiques de souches isolées au bloc de réanimation respiratoire en 1993. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de Limoges, Faculté de Sciences Pharmaceutique. 26p.

SHIMI A., TOUZANI S., ELBAKOURI N., BECHRI B., DERKAOUI A. et KHATOUF M. (2015). Les pneumopathies nosocomiales en réanimation de CHU Hassan II de Fès. 2p.

SOMIPEV : Société Marocaine d'Infectiologie Pédiatrique et de Vaccinologie. (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. 17p.

TALBERT M., WILLOQUET G. et GERVAIS R. (2015). Guide pharmaco clinique. Italie. 1060p.

TIRY C. (2017). Les bactéries du complexe *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* isolées au CHU d'Angers entre 2010 et 2014 : épidémiologie et intérêt de leur identification au rang d'espèce, Thèse pour le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de Poitiers. 18p.

Références bibliographiques

UWINGABIYE J. (2018). *Acinetobacter baumannii* : comparaison phénotypique et moléculaire des isolats colonisant et/ou infectant les patients et ceux contaminant l'environnement hospitalier. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Rabat.16, 28, 50, 129p.

ZEGMOUT A., EL OUAZZANI H., SOUHI H., RHORFI. A. et ABID A. (2017). Profil de résistance des pneumopathies à l'*Acinetobacter baumannii*. Service de pneumologie. Hôpital militaire d'instruction. Mohammed V. Rabat. Maroc. 104p.

Résumés

Les infections nosocomiales constituent une préoccupation constante surcoût et par l'allongement de la durée d'hospitalisation qu'elles entraînent.

L'objectif de cette étude est d'isoler les souches d'*Acinetobacter* à partir des prélèvements reçus du service de réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine, les identifier puis déterminer leurs profils de résistance aux antibiotiques.

C'est une étude descriptive rétrospective, menée sur une période de 3 ans allant de janvier 2018 au mars 2020.

L'âge moyen des malades infectés dans notre étude est de 43 ans, avec une prédominance de sexe masculin 66,66%, le sexe ratio est de 2, La pathologie médicale a été le motif d'hospitalisation le plus fréquent.

Acinetobacter sp. occupe le premier rang des germes responsables d'infection nosocomiales dans le service de réanimation avec taux de 74,02% des souches, suivi par *A. baumannii* et *A. calcoaceticus* avec un taux de 12,96%. Ce genre présente une résistance importante à la majorité des antibiotiques, mais il reste sensible à la colistine et la rifampicine.

De nos jours *Acinetobacter* est devenu un germe opportuniste de plus en plus émergent posant ainsi un sérieux problème de santé tant pour le clinicien que pour le microbiologiste, ce qui nous interpelle à redoubler de vigilance et tirer la sonnette d'alarme concernant l'application de bonnes pratiques d'hygiène hospitalière et l'usage rationnelle des antibiotiques.

Mots clés : *Acinetobacter*, antibiotiques, infections nosocomiales, service de réanimation.

Nosocomial infections are a constant concern over cost and by the lengthening of the period of hospitalization they entail.

The objective of this study is to isolate *Acinetobacter* strains from samples received from the intensive care unit of the Constantine Regional Military Hospital, identify them and then determine their antibiotic resistance profiles.

It is a retrospective descriptive study, carried out over a period of 3 years from January 2018 to March 2020.

In our study, the average age of infected patients is 43 years, with a predominance of 66.66% male, the sex ratio is 2. Medical pathology was the most frequent reason for hospitalization.

Acinetobacter sp. ranks first among the germs responsible for nosocomial infection in the intensive care unit with a rate of 74.02% of strains, followed by *A. baumannii* and *A. calcoaceticus* with a rate of 12.96%. This genus shows significant resistance to most antibiotics, but it remains sensitive to colistin and rifampicin.

Nowadays *Acinetobacter* has become an increasingly emerging opportunistic germ posing a serious health problem for both the clinician and the microbiologist, which calls on us to be extra vigilant and sound the alarm bells concerning the application of good hospital hygiene practices and the rational use of antibiotics.

Keywords : *Acinetobacter*, antibiotics, nosocomial infections, intensive care unit.

تعد إلتهابات المستشفيات مصدر قلق دائم بسبب التكلفة و طول مدة الإستشفاء التي تترتب عليها.

الهدف من هذه الدراسة هو عزل سلالات *Acinetobacter* انطلاقا من العينات الواردة من وحدة العناية المركزة للمستشفى العسكري الإقليمي الجامعي لقسنطينة والتعرف عليها ثم تحديد خصائصها في مقاومة المضادات الحيوية.

و هي دراسة وصفية بأثر رجعي، أجريت على مدى 3 سنوات امتدت من جانفي 2018 الى مارس 2020.

متوسط العمر للمرضى المصابين هو 43 عاما مع هيمنة الذكور بنسبة 66,66%، نسبة الجنس 2، ويعد السبب الأكثر شيوعا لدخول المستشفى هو الحالة الطبية.

تحتل *Acinetobacter sp.* المرتبة الاولى من بين الجراثيم المسؤولة عن عدوى المستشفيات في وحدة العناية المركزة بنسبة 74,02% من السلالات. تليها *A. baumannii* و *A. calcoaceticus* بنسبة 12,96%. تظهر هذه السلالة مقاومة كبيرة لمعظم المضادات الحيوية، لكنها تظل حساسة ل *colistine* و *rifampicine*

في الوقت الحاضر أصبحت *Acinetobacter* جرثومة انتهازية بشكل متزايد، وتشكل مشكلة جدية في المجال الصحي لكل من الطبيب و عالم الاحياء الدقيقة، الامر الذي يتطلب من ان نكون يقظين للغاية، وندق أجراس الانذار فيما يتعلق بتطبيق ممارسات النظافة الجيدة في المستشفى والاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية : *Acinetobacter*، مضادات حيوية، إلتهابات المستشفيات، وحدة العناية المركزة.

Annexes

Annexe 1 : fiche de renseignements.

Fiche de renseignements des prélèvements pour examens bactériologiques
A fin de poser un diagnostic fiable, veuillez bien remplir soigneusement les renseignements suivants

106UPC/102

- Identification du patient :
 N° Dossier: 20024/2008 N° Admission: 00222-20
 Nom: ANNI Phénom: SAID Age: 85 ans
 Sexe: M Service: ANESTH+REANIM

- Les renseignements cliniques et paracliniques :
 Présence de fièvre: Non Persistante Intermittente Subtilégitime du 10^e long court
 Filariose Diabète Présence de sonde urinaire Grossesse Contusionnée Traitement immunosuppresseur
 Processus tumoral avec traitement en cours Amélioration Subus nocturnes Malade en Postopératoire
 Malade hospitalisé: Depuis quand (en jours): 3 Jours
 Autres signes cliniques
 Si oui, arrêt cardio-respiratoire ou décompensation de BPCO

Antibiothérapie: Non En cours Arrêt depuis moins de 72 heures Quel Antibiotique? _____
 Présence de prothèse: Site _____
 Taux de la CRP: Non demandé CRP (<1) ou (>1) 6 CRP > 6
 Taux des Globules blancs: Non demandé Valeur référentielle normale (>) ou (<) 12000/mm³
 Diagnostic suspecté: décompensation de BPCO
 Résultats microbiologiques de Prélèvement(s) antérieur(s) envoyé(s) au labo de Microbiologie:
 Si oui, SVP indiquer: - Prélèvement N°1: N° de résultat bactériologique _____
 - Prélèvement N°2: N° de résultat bactériologique _____

- Type de prélèvement:
 LCS Urine Sécrite urinaire Pus L. ponction de kyste Hémo culture Fonction Abcès L. scote
 L. pleural L. péritonéal PDP KT central KT périphérique L. dialyse péritonéale Gorge Crachats
 L. péritonéal Prélèvement vaginal Prélèvement vulvaire Sperme Selles L. articulaire Aspiration endotrachéale
 Aspiration bronchique non protégée L. piégé non amygdalien Biopsie de tissu Biopsie osseuse L. gastrique
 Sécrétions rhinopharyngées Tubage gastrique Autres: _____
 - Site du prélèvement (pour Pus - Abcès - Biopsie) _____
 - Autre(s) type(s) de prélèvement (si ne figurant pas ci-dessus) _____
 - Recherche spécifique supplémentaires: BK Brucelle Chlamydia Mycoplasma Autres: _____

HMRUC le : 07/01/2020

Signature et griffe du médecin traitant
M. SAID
 Maître assistante
 07.01.2020

- Partie réservée au laboratoire de microbiologie :
 - Date de réception _____
 - N° identifiant du malade *180*

Annexe 2 : composition de certains milieux de cultures et réactifs.

Gélose Chapman (milieu complexe gélosé, à la fois sélectif et différent)	
❖	<p>Composition : la formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :</p> <p>Extrait de viande (bovin ou porcin).....1 g/l Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....10 g/l Chlorure de sodium.....75 g/l Mannitol.....10 g/l Agar.....15 g/l Rouge de phénol.....0,025 g/l</p> <p style="text-align: center;"><i>pH = 7,6</i></p> <p>❖ Préparation : 111 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave (15 minutes à 120 °C).</p>

Milieu Mac Conkey

❖ **Composition :** sa formule (g/l) est la suivante :

Peptone de caséine.....	17 g/l
Peptone de viande.....	3 g/l
Lactose.....	10 g/l
Mélange de sels biliaires.....	1,5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Rouge neutre.....	0,03 g/l
Cristal violet.....	0,001 g/l
Agar- agar.....	13,5 g/l

$pH = 7,1$

Stériliser à 120 °C pendant 15 min.

Gélose nutritive

❖ **Composition :**

Peptone.....	10 g/l
Extrait de viande.....	5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Agar.....	10 g/l

$pH = 7,3$

❖ **Préparation :** prêt à l'emploi en petits tubes fins.

Bouillon cœur-cervelle

❖ **Composition :**

Infusion de cervelle de veau.....	12,5 g/l
Infusion de cœur de bœuf.....	5 g/l
Peptone.....	10 g/l
Glucose.....	2 g/l
Chlorure de sodium.....	2 g/l
Phosphatase di sodique.....	5 g/l

$pH = 7,4$

❖ **Préparation :** 37 g par litre d'eau distillée.
Stérilisation à l'autoclave à 120 °C, 20 min.

Milieu de Mueller-Hinton

❖ Composition :

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17,5 g/l
Amidon de maïs.....	1,5 g/l
Agar.....	10 g/l

$pH = 7,4$

- ❖ **Préparation :** 37 g par litre de l'eau distillé.
Autoclaver 15 min à 116 °C.

Gélose Hektoen

❖ Composition :

Peptone pepsique de viande.....	15 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Extrait de levure.....	3 g/l
Lactose.....	12 g/l
Salicine.....	2 g/l
Saccharose.....	12 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Sels biliaires.....	4 g/l
Bleu de Bromothymol.....	0,064 g/l
Fuchsine acide.....	0,1 g/l
Agar.....	18 g/l
Eau distillé.....	1000 ml

$pH = 7,4 \pm 0,2$.

- ❖ **Préparation :** 75 g par litre de l'eau distillé.
Autoclaver 15 min à 121°C.

Refroidir aux environ de 45 °C, 5 ml de l'additif Hektoen sont rajoutés aux 225 ml de la gélose Hektoen.

Milieu CLED

❖ Composition :

Peptones.....	4 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Hydrolysate tryptique de caséine.....	4 g/l
L-cystine (la L-cystine est un acide aminé sulfuré).....	0,128 g/l
Lactose.....	10 g/l
Bleu de Bromothymol (indicateur de pH).....	0,002 g/l
Agar.....	15 g/l
Eau distillée (qsp).....	1000 ml

Réactifs de la coloration de Gram :

Violet de gentiane	
Phénol.....	2 g
Violet de gentiane.....	1 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

Lugol	
Iodure de potassium.....	2 g
Iode métalloïde.....	1 g
Eau distillée.....	300 ml

Fuch sine de Ziehl	
Fuch sine basique.....	1 g
Phénol.....	5 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

Annexe 3 : protocole de la coloration de Gram.

La coloration de Gram, qui permet de différencier les microorganismes selon la structure de leur paroi, est la première étape d'identification bactérienne. Expérimentalement, nous avons utilisé le test de coloration de Gram en plusieurs étapes, selon le protocole suivant :

- préparer un frottis sur une lame propre, le fixer à la chaleur ;
- recouvrir la lame avec le violet de gentiane pendant 1 minute ;
- laver la lame à l'eau distillée ;
- fixer la première coloration par le lugol pendant 1 minute ;
- laver à l'eau distillée ;
- décolorer dix secondes à l'alcool ;
- rincer immédiatement à l'eau distillée ;
- recouvrir la lame avec de la fushine, laisser agir une minute ;
- laver abondamment, puis sécher à la chaleur.

Annexe 4 : catalogue analytique de lecture de la galerie API 20 E.

Tests	Composants actifs	QTE	Réactions-enzymatique	Résultats	
				Négatif	Positif
OPNG	2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,223	B-galactosidase	incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine Dihydrolase	jaune	rouge-orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine Décarboxylase	jaune	rouge-orangé (2)
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine Décarboxylase	jaune	rouge (2)
CIT	Trisodium citrate	0,756	utilisation du Citrate	vert pâle-jaune	bleu-vert – bleu (3)
H₂S	Sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore - grisâtre	dépôt noir – fin liseré
URE	Urée	0,75	Uréase	jaune	rouge – orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane Désaminase	TDA-immédiate	
				jaune	marron - rougeâtre
IND	L- tryptophane	0,19	production d'indole	JAMES-immédiate	
				incolore	rose
VP	Sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne	VP 1 + VP2/ 10min	
				incolore – rose pâle	rose – rouge (5)
GEL	Gélatine	0,6	Gélatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation – oxydation (GLUcose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation – oxydation (MANnitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation – oxydation (INOsitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation – oxydation (SORbitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation – oxydation (RHAmnose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation – oxydation (SACharose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
MEL	D-mélibiose	1,9	fermentation – oxydation (MELibiose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
AMY	Amygdaline	0,57	Fermentation – oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation – oxydation (ARAbinose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune

(1) : une très légère couleur jaune également positive, **(2)** : une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative, **(3)** : lecture dans la cupule (zone aérobie), **(4)** : la fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule, **(5)** : une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Annexe 5 : fiche de résultat d'antibiogramme bacilles à Gram négatif non fermentaires.

Nom : Prénom Age:/

Nature du Prélèvement: Service : N° :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

**ANTIBIOGRAMME POUR BACILLES A GRAM NEGATIF
NON FERMENTAIRES**

PENICILLINES		AMINOSIDES	
Ticarcilline		Amikacine	
Ticarcilline-ac. clavulanique		Gentamicine	
Pipéracilline		Tobramycine	
Pipéracilline-ac. clavulanique		Nétilmicine	
CEPHALOSPORINES		QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES	
Ceftazidime		Ciprofloxacine	
Céfépime		Lévofloxacine	
Cefpirome		DIVERS	
MONOBACTAME		Colistine	
Aztréonam		Rifampicine	
CARBAPENEMES		Fosfomycine	
Imipénème		Doxycycline	
Méropénème		Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	
Doripénème			

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN

Annexe 6 : lecture de valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition.

Antibiotiques testés	Charge des disques (μg)	Résistante	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline	10	≤ 13	14-16	≥ 32
Amoxicilline-acide clavulanique	20/10	≤ 13	14-17	$\geq 32/16$
Céfazoline	30	≤ 19	20-22	≥ 8
Céfotaxime	30	≤ 22	23-25	≥ 26
Imipenème	10	≤ 19	20-22	≥ 23
Amikacine	30	≤ 14	15-16	≥ 17
Gentamicine	10	≤ 12	13-14	≥ 15
Acide nalidixique	30	≤ 13	14-18	≥ 19
Ciprofloxacine	5	≤ 15	16-20	≥ 21
Chloramphénicol	30	≤ 30	13-17	≥ 18
Fosfomycine	200	≤ 12	13-15	≥ 17
Triméthoprim sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75	≤ 10	11-15	$\geq 4/76$

Date de soutenance : 15/09/2020

Présenté par : Baadeche Soundous Hibet Allah
El Hadeff El Okki Halima

Thème : *Les infections nosocomiales à Acinetobacter au niveau du service de réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC).*

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme : Master en Microbiologie et Hygiène Hospitalière.

Résumé :

Les infections nosocomiales constituent une préoccupation constante surcoût et par l'allongement de la durée d'hospitalisation qu'elles entraînent.

L'objectif de cette étude est d'isoler les souches d'*Acinetobacter* à partir des prélèvements reçus du service de réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine, les identifier puis déterminer leurs profils de résistance aux antibiotiques.

C'est une étude descriptive rétrospective, menée sur une période de 3 ans allant de janvier 2018 au mars 2020.

L'âge moyen des malades infectés dans notre étude est de 43 ans, avec une prédominance de sexe masculin 66,66%, le sexe ratio est de 2, La pathologie médicale a été le motif d'hospitalisation le plus fréquent.

Acinetobacter sp. occupe le premier rang des germes responsables d'infection nosocomiales dans le service de réanimation avec taux de 74,02% des souches, suivi par *A. baumannii* et *A. calcoaceticus* avec un taux de 12,96%. Ce genre présente une résistance importante à la majorité des antibiotiques, mais il reste sensible à la colistine et la rifampicine.

De nos jours *Acinetobacter* est devenu un germe opportuniste de plus en plus émergent posant ainsi un sérieux problème de santé tant pour le clinicien que pour le microbiologiste, ce qui nous interpelle à redoubler de vigilance et tirer la sonnette d'alarme concernant l'application de bonnes pratiques d'hygiène hospitalière et l'usage rationnelle des antibiotiques.

Mots-clés : *Acinetobacter*, antibiotiques, infections nosocomiales, service de réanimation.

Laboratoire de Biologie, Unité de Microbiologie et Parasitologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) « BENBAATOUCHE ABDELALI ».

Présidente du jury : M^{me} ZITOUNI H. (Maître de conférences B – UFM Constantine)

Rapporteur : M^{me} HARZALLAH B. (Maître de conférences B – UFM Constantine 1)

Examinatrice : M^{me} BENHAMDI A. (Maître de conférences B – UFM Constantine 1)

Maitre de stage : M^r RAMDANI H. (Maître-assistant en Microbiologie – HMRUC)

Année universitaire : 2019 – 2020