



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم: ميكروبيولوجي

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Micro-organismes

Intitulé :

---

***Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii :***  
**Caractéristiques épidémiologiques**  
**et résistance aux antibiotiques**

---

Elaboré par : Amouchas nesrine  
Benselmi hadjer  
Boufrah anfel

Soutenu le : 23/09/2021

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme Abdelaziz Ouided (MCB UFM Constantine 1)

Rapporteur : Mme Hecini-Hannachi Abla (MCA U Salah Boubnider Constantine 3)

Examinatrice : Mme Boultifat Linda (MCB UFM Constantine 1)

*Année universitaire 2020- 2021*



## **Remerciements**

Avant tout, on remercie **Dieu le tout puissant et miséricordieux** de nous avoir donné la chance d'étudier et de nous avoir procuré force, courage, et patience pour compléter ce travail.

Un grand merci pour **nos parents** qui ont veillé sur nous, et qui ont tout sacrifié pour notre bien-être.

### **A notre encadreur,**

**Mme Hecini-Hannachi Abla**, MCA à la Faculté de Médecine, U Saleh Boubnider Constantine 3.

On vous remercie pour votre aide, orientation et tolérance qui nous ont encouragées durant ce labeur, et surtout pour votre disponibilité malgré vos obligations professionnelles.

Veillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et notre grand respect.

### **Aux membres du jury,**

**Mme Abdelaziz Ouided**, Maitre de Conférence B et **Mme Boultifat Linda**, Maitre de Conférence B, les deux à UFM Constantine 3, qui nous ont fait l'honneur de faire partie du jury. On vous exprime notre profond respect et notre gratitude.

## Dédicaces

*En signe de respect et d'appréciation, je tiens à dédier ce modeste travail :*

*À Maman,* pour tout l'amour et le soutien inconditionnel que tu m'as apportée tout au long des étapes de ma vie. Je ne sais comment te remercier pour tout ce que tu as fait pour moi, c'est grâce à toi si j'en suis arrivée là. Cette journée marque l'aboutissement de ces années de travail, j'espère te rendre fière. Que Dieu te garde pour moi.

*À Papa,* parce que tu m'as transmis les valeurs du travail, de la rigueur et de l'ambition. Tu m'as toujours soutenue et aidée à avoir confiance en moi lorsque j'en avais besoin. Merci à Anne et Caroline pour leur joie de vivre et leur présence.

*À Mes frères et sœur, mes amies et toute ma famille,* parce que nous sommes très unis. Merci pour tous les souvenirs que nous nous sommes construits ensemble aussi drôles les uns que les autres, pour tous ces moments de complicité et pour votre présence dans les moments les plus durs.

Je dédie également ce travail à tous ceux qui m'ont encouragée et aidée à réaliser ce travail de près ou de loin et qui ont participé à ma réussite.

*Nesrine.*

*C'est avec un énorme plaisir et un cœur ouvert je dédie ce travail :*

Spécialement à *ma chère maman* qui s'est sacrifiée pour mon bien et à éclairer mon chemin avec sa compréhension et son soutien. *Que Dieu la garde pour moi*

*A mon cousin Kamal.*

*A mon oncle Mohamed.*

*A toute ma chère famille.*

Ainsi qu'à toute personne m'ayant encouragée ou aidée tout au long de mes études.

*Hadjer.*

*C'est avec beaucoup d'émotions que je dédie ce travail :*

*A mes chers parents* pour leur amour, soutien et encouragement, je vous aime infiniment et j'aurai toujours besoin de vous à mes côtés, j'espère vous rendre fiers de moi.

*A Mes sœurs* spécialement la cadette Manar, et toutes mes amies avec lesquelles j'ai partagé de très beaux souvenirs,

Sans oublier *mes enseignants* tout au long de mes études,

Et toutes les personnes qui m'ont soutenue moralement surtout dans les moments difficiles.

*Anfel.*

## TABLE DES MATIERES

RESUMES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION ..... 1

**PARTIE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **CHAPITRE 1. GENERALITES**

1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
1.1.1. Position taxonomique .....	3
1.1.2. Habitat .....	3
1.1.3. Caractères bactériologiques .....	4
1.1.3.a. Caractères morphologiques .....	4
1.1.3.b. Caractères cultureux .....	4
1.1.3.c. Caractères biochimiques .....	4
1.1.3.d. Caractères génomiques .....	5
1.1.4. Facteurs de virulence .....	5
1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	6
1.2.1. Position taxonomique .....	6
1.2.2. Habitat .....	7
1.2.3. Caractères bactériologiques .....	7
1.2.3.a. Caractères morphologiques .....	7
1.2.3.b. Caractères cultureux .....	8
1.2.3.c. Caractères biochimiques .....	8
1.2.3.d. Caractère génotypiques .....	8
1.2.4. Facteurs de virulence .....	8

### **CHAPITRE 2. MANIFESTATIONS CLINIQUES**

2.1. Chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	10
2.2. Chez <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	11

### **CHAPITRE 3. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**

3.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	13
3.1.1. Résistance Naturelle .....	13
3.1.2. Résistance Acquisée .....	13
3.1.2.a. Mécanismes enzymatique .....	14
3.1.2.b. Mécanismes non enzymatique .....	15
3.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	15
3.2.1. Résistance naturelle .....	15
3.2.2. Résistance acquise .....	16
3.2.2.a. Mécanismes enzymatiques .....	16
3.2.2.b. Mécanismes non enzymatiques .....	17
<b>PARTIE II. METHODOLOGIE DE DIAGNOSTIC</b> .....	<b>19</b>
1. Lieu du stage .....	19
2. Type et durée de l'étude .....	19
3. Matériel et méthodes .....	19
3.1. Isolement .....	19
3.2. Identification .....	20

3.2.1. Examen macroscopique .....	20
3.2.2. Examens microscopique .....	22
3.2.2.a. Examen à l'état frais .....	22
3.2.2.b. Examen après coloration .....	24
3.2.3. Identification biochimique .....	26
3.2.3.a. Test de l'oxydase .....	26
3.2.3.b. Test de la catalase .....	27
3.2.3.c. Recherche des pigments spécifiques de <i>Pseudomonas</i> .....	29
3.2.3.d. Galerie biochimique API 20NE .....	30
3.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques .....	33
3.3.1. Technique de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques .....	33
<b>PARTIE III. RESULTATS</b>	
1. Caractéristiques épidémiologiques .....	38
1.1. Répartition globale des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A. baumannii</i> .....	38
1.2. Répartition des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon le sexe .....	39
1.3. Répartition des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon l'âge .....	40
1.4. Répartition des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon le service.....	42
1.5. Répartition des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon la nature du prélèvement. ....	46
2. Profil de résistance aux antibiotiques .....	48
2.1. Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines. ....	48
2.2. Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques .....	50
3. Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR) .....	52
3.1. Profil de résistance des BMR .....	54
3.2. Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) selon le service .....	57
3.3 Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) selon la nature du prélèvement .....	60
4. Fréquence des souches hautement résistantes(BHR) et profil de résistance.....	62
4.1. Fréquence des BHR selon le service et la nature du prélèvement .....	64
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>66</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>78</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>80</b>
<b>ANNEXES</b>	



## Résumé

*P.aeruginosa* et *A.baumannii* sont des bacilles à Gram négatif non fermentants (BGnF). Bactéries pathogènes opportunistes, elles sont responsables d'infections nosocomiales remarquables par leur sévérité. L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique. Le but de ce travail était de déterminer les caractéristiques épidémiologiques des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* ainsi que d'évaluer le profil de résistance aux différentes familles d'antibiotiques. L'étude était réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, portant sur 217 souches isolées dans divers prélèvements et conduite durant les deux années 2019-2020 (étude prospective) et du 13 juin au 13 juillet 2021 (étude rétrospective). Les résultats obtenus ont montré que *P. aeruginosa* et *A.baumannii* représentaient respectivement 85,71% et 14,29% des cas et une prédominance masculine a été remarquée chez les deux germes (63,98%, 64,52%) avec une fréquence élevée chez les patients âgés de plus de 60 ans (26,88% et 38,71%). La plupart des isolats provenaient de pus (36,48% et 30,56%) et *P.aeruginosa* a été isolé dans différents services alors le service de réanimation était la principale source d'isolement de *A.baumannii* (41,93%). Dans notre série, le profil de sensibilité des bactéries a montré des proportions élevées de résistance à toutes les familles d'antibiotiques, plus importantes chez *A.baumannii*, surtout pour la ceftazidime (8,60%, 77,42%) et l'imipénème (9,14%, 64,52%), les taux de bactéries multi-résistantes (BMR) ont atteint 40,86% et 77,42% respectivement. La prévalence de la résistance à la colistine, molécule prescrite comme traitement de dernier recours reste actuellement basse (1,61% et 6,45%). Nos résultats ont montré que la fréquence de la résistance aux antibiotiques a augmenté de façon inquiétante dans notre établissement. L'émergence des BMR représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène. L'optimisation de l'utilisation clinique de la colistine a une importance croissante et constitue la priorité actuelle.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - *Acinetobacter baumannii*- Résistances aux antibiotiques – Epidémiologie- Multi-résistanc

## **Abstract**

*P.aeruginosa* and *A.baumannii* are non-fermenting Gram-negative bacilli (BGnF). Opportunistic pathogenic bacteria, they are responsible for nosocomial infections remarkable for their severity. The emergence and spread of antibiotic resistance represent a major public health threat. The aim of this work was to determine the epidemiological characteristics of the strains of *P. aeruginosa* and *A.baumannii* as well as to assess the resistance profile to the different families of antibiotics. The study was carried out in the microbiology laboratory of the Military Hospital in Constantine, involving 217 strains isolated from various samples and conducted during the two years 2019-2020 (prospective study) and from June 13 to July 13, 2021 (study retrospective). The results obtained showed that *P. aeruginosa* and *A.baumannii* represented respectively 85.71% and 14.29% of cases and a male predominance was observed in the two germs (63.98%, 64.52%) with a high frequency in patients over 60 years (26.88% and 38.71%). Most of the isolates were from pus (36.48% and 30.56%) and *P.aeruginosa* was isolated in different wards, so the intensive care unit was the main source of isolation of *A.baumannii* (41.93%). In our series, the sensitivity profile of the bacteria showed high proportions of resistance to all families of antibiotics, more important in *A.baumannii*, especially for ceftazidime (8.60%, 77.42%) and imipenem (9.14%, 64.52%), the levels of multi-resistant bacteria (BMR) reached 40.86% and 77.42% respectively. The prevalence of resistance to colistin, a molecule prescribed as a treatment of last resort, currently remains low (1.61% and 6.45%). Our results showed that the frequency of antibiotic resistance has increased alarmingly in our facility. The emergence of BMR represents a serious therapeutic and epidemiological problem, hence the need for the establishment of a monitoring system of the microbial environment of the hospital and the strict application of hygiene measures. Optimizing the clinical use of colistin is of increasing importance and the current priority.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa* - *Acinetobacter baumannii*- Resistance to antibiotics - Epidemiology - Multi-resistance.

## ملخص

*Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* عبارة عن عصيات سالبة الجرام غير مخمرة , كلاهما بكتيريا ضارة انتهازية و مسببة لالتهابات حادة , يمثل ظهور و انتشار مقاومة المضادات الحيوية تهديدا خطيرا للصحة العمومية, كان الهدف من هذا العمل تحديد الخصائص الوبائية لهاتين السلالتين و كذلك تقييم خصائص المقاومة لمختلف عائلات المضادات الحيوية, أجريت الدراسة في مخبر الكائنات الدقيقة في المستشفى العسكري بقسنطينة حول 217 سلالة معزولة من عدة عينات , و أجريت خلال عامين 2019 و 2020 (دراسة استباقية) و منه 13 يونيو إلى 13 يوليو (بأثر رجعي), النتائج أظهرت أن *P.aeruginosa* و *A.baumannii* يمثلان على التوالي 85,71% و 14,29% كما لوحظ أن أغلبهما عزل من عينات تعود للذكور (63,98% و 64,58%) مع انتشار عال عند الأشخاص الذين يتجاوز سنهم 60 سنة (26,88% و 38,71%), أغلب العازلات كانت من القيح (36,48% و 30,58%), *P.aeruginosa* تواجدت في مختلف الأجنحة بينما بالنسبة *A.baumannii* فالعناية المركزة كانت المصدر الرئيسي لعزلها (41,93%), في سلسلتنا أظهر ملف دراسة الحساسية للبكتيريا نسب عالية من المقاومة لجميع عائلات المضادات الحيوية ,أكثر أهمية عند *A.baumannii* خاصة بالنسبة للسيفتازيم (8,60% و 77,42%) و الاميبينيم (9,14% و 64,52%). بلغت نسبة البكتيريا متعددة المقاومة 40,86% و 77,42% على التوالي. لا يزال انتشار مقاومة الكوليستين, جزيء يستعمل كعلاج أخير, منخفضا حاليا (1,61% و 6,45%).

أظهرت نتائجنا أن وتيرة مقاومة المضادات الحيوية قد زادت بشكل مثير للقلق في منشأتنا. يمثل ظهور البكتيريا متعددة المقاومة مشكلة علاجية ووبائية خطيرة, ومن هنا تأتي الحاجة إلى إنشاء نظام مراقبة للبيئة الميكروبية في المستشفى و التطبيق الصارم لإجراءات النظافة. يعد تحسين استخدام الكوليستين أهمية متزايدة وألوية حاليا.

**الكلمات المفتاحية:** *Pseudomonas aeruginosa* , *Acinetobacter baumannii* , مقاومة المضادات الحيوية, علم الأوبئة, المقاومة المتعددة.

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
<b>Figure (1)</b>	<i>P. aeruginosa</i> en microscopie électronique	<b>4</b>
<b>Figure (2)</b>	<i>A.baumannii</i> en microscopie électronique	<b>7</b>
<b>Figure (3)</b>	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques	<b>18</b>
<b>Figure (4)</b>	Culture de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur milieu Hektoen	<b>21</b>
<b>Figure (5)</b>	Culture d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur gélose nutritive	<b>21</b>
<b>Figure (6)</b>	Aspect de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à objectif x40	<b>23</b>
<b>Figure (7)</b>	Aspect d' <i>Acinetobacter baumannii</i> à objectif x40	<b>23</b>
<b>Figure (8)</b>	Aspects de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et d' <i>Acinetobacter baumannii</i> après coloration de Gram à objectif x100	<b>26</b>
<b>Figure (9)</b>	<i>P.aureginosa</i> : oxydase positive	<b>27</b>
<b>Figure (10)</b>	Résultat positif pour la recherche de catalase	<b>28</b>
<b>Figure (11)</b>	Milieux King A et King B	<b>29</b>
<b>Figure (12)</b>	Résultats de la galerie API 20 NE	<b>32</b>
<b>Figure (13)</b>	Application des disques d'antibiotiques	<b>34</b>
<b>Figure (14)</b>	Zones d'inhibition des antibiotiques testés	<b>35</b>
<b>Figure (15)</b>	Répartition globale d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i>	<b>38</b>
<b>Figure (16)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon le sexe	<b>40</b>
<b>Figure (17)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon l'âge	<b>42</b>
<b>Figure (18)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon le service	<b>45</b>

## LISTE DES FIGURES (SUITE)

N°	Figure	Page
<b>Figure (19)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon la nature du prélèvement	<b>48</b>
<b>Figure (20)</b>	Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i>	<b>50</b>
<b>Figure (21)</b>	Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i>	<b>52</b>
<b>Figure (22)</b>	Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR) chez <i>P.aureginosa</i> et <i>A.baumannii</i>	<b>53</b>
<b>Figure (23)</b>	Profil de résistance des BMR chez <i>P. aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i>	<b>56</b>
<b>Figure (24)</b>	Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> selon le service	<b>59</b>
<b>Figure (25)</b>	Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez <i>P. aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> selon la nature du prélèvement	<b>62</b>
<b>Figure (26)</b>	Profil de résistance des bactéries hautement résistantes (BHR) chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i>	<b>64</b>
<b>Figure (27)</b>	Fréquence des BHR selon le service et la nature du prélèvement	<b>65</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
<b>Tableau (1)</b>	Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>3</b>
<b>Tableau (2)</b>	Classification d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	<b>6</b>
<b>Tableau (3)</b>	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions concernant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon les normes du CLSI	<b>36</b>
<b>Tableau (4)</b>	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions concernant <i>Acinetobacter baumannii</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selon les normes du CLSI	<b>37</b>
<b>Tableau (5)</b>	Répartition globale d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A. baumannii</i>	<b>38</b>
<b>Tableau (6)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon le sexe	<b>39</b>
<b>Tableau (7)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i> selon l'âge	<b>41</b>
<b>Tableau (8)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A. baumannii</i> selon le service	<b>44</b>
<b>Tableau (9)</b>	Fréquence d'isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> et d' <i>A. baumannii</i> selon la nature du prélèvement	<b>47</b>
<b>Tableau (10)</b>	Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i>	<b>49</b>
<b>Tableau (11)</b>	Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i>	<b>51</b>
<b>Tableau (12)</b>	Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR) chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i>	<b>53</b>
<b>Tableau (13)</b>	Profil de résistance des BMR chez <i>P. aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i>	<b>55</b>
<b>Tableau (14)</b>	Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> selon le service	<b>58</b>
<b>Tableau (15)</b>	Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> selon la nature du prélèvement	<b>61</b>
<b>Tableau (16)</b>	Profil de résistance des BHR chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i>	<b>63</b>
<b>Tableau (17)</b>	Fréquence des BHR selon le service et la nature du prélèvement	<b>65</b>

N°	Titre	Page
<b>Tableau (18)</b>	Comparaison des fréquences d'isolement de <i>P.aeruginosa</i> et d' <i>A.baumannii</i>	<b>67</b>

## LISTE DES ANNEXES

N°	annexe	Page
<b>Annexe (1)</b>	Fiche de renseignements	<b>i.</b>
<b>Annexe (2)</b>	Tableau de lecture de l'API 20 NE résistance (BioMérieux SA)	<b>ii.</b>
<b>Annexe (3)</b>	Profil de résistance aux antibiotiques des BMR chez <i>P. aeruginosa</i> (76 souches).	<b>iii.</b>
<b>Annexe (4)</b>	Profil de résistance aux antibiotiques des BMR chez <i>Acinetobacter baumannii</i> (24 souches).	<b>iv.</b>



## LISTE DES ABREVIATIONS

- **ANT** : Nucléotidyltransférase
- **API 20NE** : *Analytical profile index 20 Non Entérobactéries*
- **ADH** : Arginine dihydrolase
- **APH** : Aminoglycoside phosphotransférases
- **AAC** : Aminoglycoside acétyltransférases
- **ADP** : Adénosine Di-Phosphate
- ***A.baumannii*** : *Acinetobacter baumannii*
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **ATM** : Aztréonam
- **AK** : Amikacine
- **AmpC** : Amp Cyclique
- **BLSE** :  $\beta$ -Lactamase à Spectre Etendu
- **BMR** : Bactérie multi-résistante
- **BM** : Bleu de méthylène
- **CUP** : *Chaperone usher pathway*
- **CTX-M** : Céfotaxime Munich
- **C<sub>1</sub>G** : Céphalosporines de 1ère génération
- **C<sub>2</sub>G** : Céphalosporines de 2ème génération
- **C<sub>3</sub>G** : Céphalosporines de 3ème génération
- **C<sub>4</sub>G** : Céphalosporines de 4ème génération
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- **CLSI** : *Clinical and laboratory standards institute*
- **CAZ** : Céftazidime
- **CIP** : Ciprofloxacine
- **CT** : Colistine
- **DO** : Doxycycline
- **DL50** : Dose létale 50%
- **ETA** : Exotoxine A
- **ESC** : Esculine
- **ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines.

- **F** : Féminin
- **FOS** : Fosfomicine
- **GLU** : Glucose
- **GN** : Gentamicine
- **BHR** : Bactérie hautement résistante
- **HMRUC** : Hôpital Militaire Régional Universitaire Constantine
- **IS** : *Insertions Sequence* (séquence d'insertion)
- **IPM** : Imipénème
- **IAS** : Infection associés aux soins
- **KO** : Kilo octet
- **KPC-like** : *Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae Colonizing*
- **LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien
- **LEV** : Lévofoxacine
- **LPS** : Lipopolysaccharide
  
- **Mm** : Millimètre
- **MF** : Mac Ferland
- **M** : Masculin
- **ml** : Millilitre
- **Nm** : Nanomètre
- **N** : Nombre
- **NO<sub>2</sub>** : Nitrites
- **NO<sub>3</sub>** : Nitrates
- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **NDM** : New-Delhi Métallo-B-lactamase
- **NET** : Nétilmicine
- **NIT** : Nitrate réductase
- **OMP** : *Outer membrane protein*
- **ONPG** : Orthonitroohényl-3-D-galactopyrannoside
- **OXA** : Oxacillinase
- **PNP** : 4-nitrophényl-βD-galactopyranoside
- **PAC** : Acide phénylacétique
- **PBP** : Penicillin Binding Protein

- *P.aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*
- **PRL** : Pipéracilline
- *QS* : *Quorum sensing*
- **RD** : Rifampicine
- **SHV** : Sulfhydrile-Variable
- **SXT** : Triméthoprim-Sulfaméthoxazole
- **TIC** : Ticarcilline
- **TRP** : L-tryptophane
- **TIM** : Ticarcilline-ac-Clavulanique
- **TZP** : Pipéracilline-acide Clavulanique
- **TOB** : Tobramycine
- **URE** : Uréase
- **VIM** : Verona imipenamase
- % : Pourcent
- °C : Degré Celsius
- µm : Micromètre

# **INTRODUCTION**

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) sont des bacilles à Gram négatif non fermentants, ubiquitaires, retrouvés dans l'environnement (sols, eau...) et pouvant être responsables d'infections cliniques sur des terrains débilisés [1].

Ces deux germes sont des pathogènes opportunistes, pouvant être isolés d'infections communautaires, mais sont le plus souvent responsables d'infections nosocomiales [2, 3]. Les patients les plus fragiles sont généralement les cibles de ces pathogènes [4].

*P. aeruginosa* est isolé de façon sporadique ou peut être responsable de véritables épidémies dans les services de soins, infectant préférentiellement des sujets hospitalisés immuno-déficients ou affaiblis : brûlés, cancéreux, malades d'unités de soins intensifs, transplantés, dialysés ou sujets atteints de mucoviscidose par exemple, causant des infections des voies urinaires, des voies respiratoires et des infections de plaies chez les brûlés [4, 5].

*A. baumannii*, fréquemment responsable d'épidémies en milieu hospitalier, et notamment dans les services de réanimation, est souvent responsable d'infections associées aux soins de santé, y compris : les bactériémies, les infections des voies urinaires et les méningites secondaires. Ainsi, il est fortement impliqué dans la pneumonie hospitalière, notamment la pneumonie des patients hospitalisés dans les unités respiratoires et dans les unités de soins intensifs [6, 7].

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale. Au fur et à mesure de la découverte de nouveaux antibiotiques, les bactéries ont progressivement accumulé dans leur matériel génétique les gènes conduisant à la multi-résistance.

C'est ainsi que l'antibiorésistance bactérienne devient aujourd'hui un problème majeur de santé publique extrêmement préoccupant aussi bien dans les pays développés que dans les pays en développement, en particulier chez les bacilles à Gram négatif, dont les conséquences se mesurent en termes de difficultés thérapeutiques accrues associées à une augmentation de la morbidité et de la mortalité dues à ces deux germes [8, 9].

De nos jours, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont devenus résistants à un grand nombre d'antibiotiques, y compris les carbapénèmes et les céphalosporines de troisième génération

(C<sub>3</sub>G), les meilleurs produits disponibles pour traiter les bactéries multi-résistantes. Le principal mécanisme de résistance aux C<sub>3</sub>G et aux carbapénèmes est l'acquisition de gènes encodant respectivement des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénémases.

La colistine a pendant longtemps été fort peu utilisée en médecine humaine à cause de sa toxicité rénale. Aujourd'hui cet antibiotique est prescrit à nouveau souvent comme traitement de dernier recours dans un contexte d'infections sévères occasionnées par des bactéries multi-résistantes telles que *P. aeruginosa* et *A.baumannii*. La résistance à la colistine a rapidement émergé suite à sa réintroduction en clinique et elle est en augmentation constante, particulièrement dans les pays où la prévalence de ces bactéries est élevée.

Les infections causées par les bactéries multi-résistantes ont conduit non seulement à une augmentation de la mortalité, de la morbidité et du coût de traitement, mais aussi continuent à mettre en danger la vie des patients surtout immunodéprimés. L'utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques a grandement contribué à la large diffusion de la résistance aux antibiotiques.

Ainsi, face à cette préoccupation mondiale et suite à de nombreuses recommandations, plusieurs études épidémiologiques ont été rapportées afin de surveiller la diffusion et la dissémination de la résistance aux antibiotiques.

C'est dans cette optique que notre travail a visé comme objectifs :

- L'isolement et l'identification des souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* à partir de produits pathologiques de patients hospitalisés à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine et en ambulatoire, par des méthodes conventionnelles.
- L'étude des caractéristiques épidémiologiques des souches isolées chez l'enfant et l'adulte (âge, sexe, nature du prélèvement et service).
- L'étude de la résistance aux principaux antibiotiques actifs : les bêta-lactamines, les aminosides, les fluoroquinolones et autres antibiotiques tels que, le cotrimoxazole et les tétracyclines.

**PARTIE I.  
SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE 1.**

# **GENERALITES**



## 1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

### 1.1.1. Position taxonomique

La classification en genres et espèces à l'intérieur de la famille des *Pseudomonadaceae* a longtemps reposé sur des caractères phénotypiques simples d'orientation. La simplification de cette classification a été réalisée par Satiner (1966) qui a étudié principalement l'assimilation des substrats carbonés (auxanogramme) et par Palleroni (1984) qui a classé les espèces de *Pseudomonas* en cinq groupes génomiques [10]. La taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* est présentée dans le (Tableau 1).

**Tableau 1.** Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* [10]

<b>Règne</b>	<b>Bacteria</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Prokaryota</b>
<b>Division</b>	<b>Proteobacteria</b>
<b>Classe</b>	<b>Gammaproteobacteria</b>
<b>Ordre</b>	<b>Pseudomonadales</b>
<b>Famille</b>	<b>Pseudomonadaceae</b>

### 1.1.2. Habitat

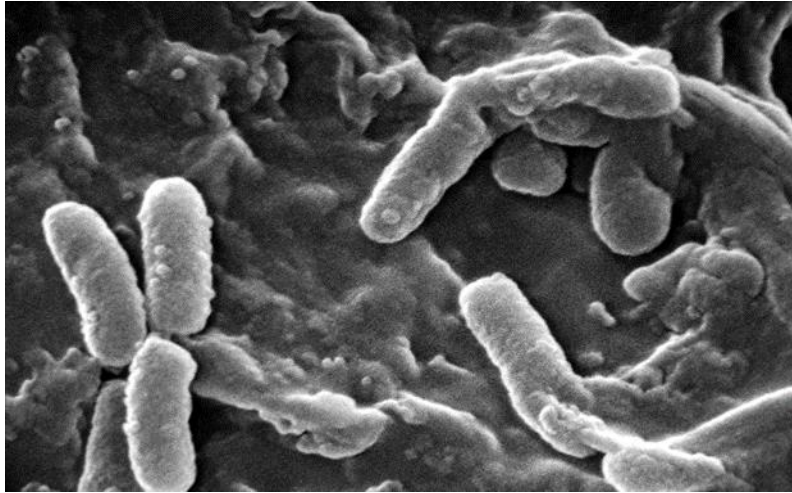
*P. aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire de l'environnement, pouvant se développer chez l'homme, les animaux, les végétaux ainsi que dans divers environnements, notamment aquatiques. L'hôpital constitue ainsi une niche favorable à son développement où différents réservoirs ont été identifiés, tels que les réseaux d'eaux [11], les lavabos, matériels d'analyses mal nettoyés, solutions d'antiseptiques contaminées ....etc. Ces réservoirs ont été identifiés comme pouvant être à l'origine d'infections associées aux soins (IAS).

*P. aeruginosa* est une bactérie versatile, possédant des propriétés d'adaptation à de nombreuses conditions physico-chimiques, lui permettant de survivre ou de s'adapter dans ces différents environnements. Des souches environnementales isolées au sein de siphons et très proches phylogénétiquement (différant par moins de 14 mutations) ont ainsi pu être mises en évidence à près de 10 années d'intervalle [12].

### 1.1.3. Caractères bactériologiques

#### 1.1.3.a. Caractères morphologiques

*P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet 1 à 5  $\mu\text{m}$  de longueur et 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de largeur[13]. Mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique, dépourvu de spores et de capsules[14].



**Figure 1.** *P. aeruginosa* en microscopie électronique [15]

#### 1.1.3.b. Caractères cultureux

*P. aeruginosa* cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringa. La température optimale de croissance est de 30 °C. Sur milieux solides, trois types de colonies peuvent être observés simultanément ou de manière isolée :

- Colonies larges de 2 à 3 mm de diamètre, à bords irréguliers, rugueuses, avec une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques ;
- Colonies plus petites lisses bombées à bords réguliers ;
- Colonies muqueuses, bombées, coalescentes, filantes, rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère exopolysaccharidique appelé alginate. [10]

#### 1.1.3.c. Caractères biochimiques

*P.aeruginosa* présente un métabolisme oxydatif. Cette bactérie a la capacité de dégrader des composés complexes (les protéines et les polysaccharides complexes), elle possède un nitrate

---

réductase, une arginine–dihydrolase et une lécithinase [16].

*P.aeruginosa* produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification. Ils peuvent être mis en évidence dans les milieux King B et King A [17] :

- la pyoverdine: pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- la pyocyanine (phénazinique) : pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme.

Cette espèce est la seule à les produire [17].

#### **1.1.3.d. Caractères génomiques**

Le génome de la souche PA01 de *P. aeruginosa* a été complètement séquencé en 2000. Il comprend 6,3 millions de paires de bases contenant 5570 gènes avec un pourcentage molaire C+G important (66%). Seuls 6,7 % de ces gènes ont une fonction bien connue. Le pourcentage des séquences régulatrices est plus important dans le génome entier de *P. aeruginosa* (8,4%) [18]. Environ 200 à 300 gènes, ce qui représente 5% du génome, codent pour des facteurs de virulence [19].

#### **1.1.4. Facteurs de virulence**

Cette bactérie possède plusieurs facteurs de virulence permettant sa survie dans différents hôtes :

- le flagelle bactérien qui est impliqué dans l'adhérence aux cellules épithéliales respiratoires. Il joue aussi un rôle important dans les stades précoces du développement du biofilm bactérien in vitro ;
- le pilus de type IV est la principale adhésine de *P. aeruginosa* responsable de l'adhésion aux cellules épithéliales ;
- le pili de type fimbriae, essentiel pour l'adhérence aux surfaces abiotiques et dans la formation du biofilm ;
- le Lipopolysaccharide (LPS) qui protège contre l'action bactéricide du sérum et pour son activité endotoxique. Il est également impliqué dans la stimulation de la réponse inflammatoire et les interactions avec les tissus hôtes ;
- l'exotoxine A (ETA) est le composé protéique le plus toxique produit par *P. aeruginosa* avec une DL50 de 0,2 mg chez la souris ;

- l'élastase, une métalloprotéase à zinc qui a une activité protéolytique très importante ;
- le rhamnolipide qui possède un pouvoir détergent sur les phospholipides du surfactant pulmonaire, ce qui les rend ainsi plus accessibles aux phospholipases bactériennes ;
- la lectine qui pourrait être impliquée dans la reconnaissance et l'adhésion bactérie-hôte, bactérie-bactérie ou encore bactérie-biofilm ;
- La protéase alcaline, protéase qui dégrade la fibrine et son rôle pathogène est documenté dans les infections cornéennes comme toutes les protéases produites chez *P. aeruginosa*. Il y a aussi les deux pigments qui ont un pouvoir pathogène ;
- les facteurs quorum sensing indépendants, sécrétés via le système de sécrétion ;
- les alginates permettent la formation d'un biofilm qui favorise l'adhésion aux cellules épithéliales et protège la bactérie de la phagocytose, des anticorps, de l'action des antibiotiques et des désinfectants. [20].

## 1.2. *Acinetobacter baumannii*

### 1.2.1. Position taxonomique

Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la famille des Moraxellaceae au sein de l'ordre Pseudomonadales et qui regroupe les genres *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Psychrobacter* (**Tableau 2**) [21]. Une avancée majeure dans l'histoire du genre *Acinetobacter* a été réalisée en 1986 grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimons qui sont parvenus à distinguer 12 espèces génomiques, certaines étant clairement dénommées comme *Acinetobacter baumannii* (espèce type), *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii* et *Acinetobacter lwoffii* [22].

**Tableau 2.** Classification d'*Acinetobacter baumannii* [21]

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

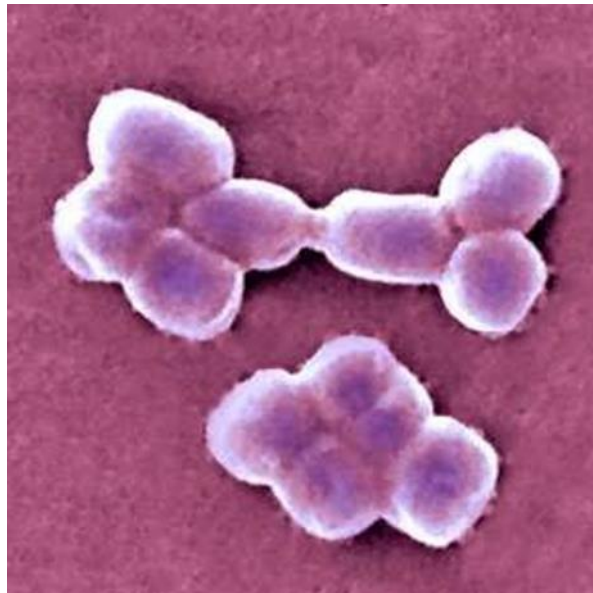
### 1.2.2. Habitat

Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont souvent considérées comme des microorganismes ubiquitaires pouvant être isolées à partir du sol et des eaux, des milieux aquatiques, des eaux d'égouts : elles peuvent survivre à la fois sur des surfaces humides et sèches. Dans les milieux hospitaliers en particulier, *Acinetobacter baumannii*, est l'agent fréquent de colonisation cutanée et muqueuse chez les patients [10], ainsi que les équipements médicaux : eau des robinets, pièges à évier, lits, matelas, oreillers, surfaces métalliques ...etc. [23].

### 1.2.3. Caractères bactériologiques

#### 1.2.3.a. Caractères morphologiques

*A.baumannii* est un diplo-coccobacille à Gram négatif, d'environ 2 à 3µm de diamètre, parfois capsulé et non pigmenté[24], immobile et sans flagelle, il peut cependant se déplacer grâce à des structures polaires ressemblant à des fimbriaes de 5 nm de diamètre et de 10 à 15 nm de long [25]. Non sporulé, il est en général très polymorphe avec des formes filamenteuses dans les cultures âgées[26, 27].



**Figure 2.** *A.baumannii* en microscopie électronique [ 28]

### 1.2.3.b. Caractères cultureux

*A.baumannii* est un aérobie strict, il pousse sur les milieux usuels (gélose nutritive au sang, gélose Mac Conkey, Hektoen...), L'incubation se fait à une température de croissance entre 41 et 44° C (critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces qui poussent à 37° C), les colonies se présentent sous forme arrondies de 1 à 3 mm de diamètre, convexes, ayant un aspect lisse, parfois Mucoïde, à contours réguliers [27].

### 1.2.3.c. Caractères biochimiques

La galerie d'identification API 20 NE est une galerie de 20 micro-tubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles à Gram négatif. Après préparation de l'inoculum et l'ensemencement de la galerie, on identifie notre souche comme suit : aérobie strict, non-fermentant, oxydase négative, catalase positive, décarboxylation de la lysine et l'ornithine , arginine dihydrolase , nitrate réductase, gélatinase, hémolyse négatives, acidification sans production du gaz du glucose, mannose, galactose, xylose, arabinose et lactose [10] .

### 1.2.3.d. Caractère génotypiques

*A.baumannii* se caractérise par un unique chromosome circulaire contenant 3.976.747 paires de base dans lesquelles 3454 sont codées en 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.

Ces gènes résistent, non seulement, aux différents antibiotiques, mais aussi aux métaux, arsenic et mercure.

Il existe aussi 14 gènes de résistance codant pour les intégrons classe 1 qui sont des sections de chromosomes capables de recombinaison, d'expression, et d'intégration.[29].

### 1.2.4. Facteurs de virulence

*A.baumannii* possède aussi plusieurs facteurs de virulence, on cite :

- les Lipopolysaccharides (LPS) qui rendent les souches d'*Acinetobacter* plus pathogènes que les souches non productrices[30] .

- le Quorum-détection est impliqué dans une série d'importantes activités microbiennes telles que la biosynthèse des enzymes extracellulaires, la formation de biofilm, la production de biosurfactants, la biosynthèse des antibiotiques et les facteurs de virulence extracellulaires
- les Ilots de pathogénicité contiennent des gènes impliqués dans la virulence, dont le plus important semble contenir un appareil de sécrétion de type IV [32].
- la formation de biofilm qui explique sa résistance à la dessiccation et à la désinfection [33] .
- l'acquisition du fer par les pathogènes qui font la production de sidérophores, capables de capter le fer à partir de molécules de l'hôte et de le retourner à la cellule bactérienne pour l'utiliser [34].

**CHAPITRE 2.**  
**MANIFESTATIONS**  
**CLINIQUES**



### 2.1. Chez *Pseudomonas aeruginosa* [35]

Les infections à *P. aeruginosa* sont difficiles à traiter, en raison de sa capacité d'acquérir de nouveaux mécanismes de résistance, ce qui qualifie la bactérie de pathogène opportuniste impliqué, par excellence, dans les infections nosocomiales les plus redoutables[36].

*P.aeruginosa* est invasif et toxigène et est responsable de beaucoup d'infections.

#### ❖ Infections respiratoires:

*P. aeruginosa* est rencontré lors des infections respiratoires chroniques telles que la mucoviscidose, La broncho-pneumopathie chronique obstructive et la dilation des bronches. L'inflammation du tractus respiratoire causée par une infection chronique à *P. aeruginosa* est la cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients mucoviscidosiques.

#### ❖ Infections des voies urinaires:

La bactérie semble être parmi les plus adhérentes de pathogènes urinaires à l'épithélium de la vessie. En outre, *P. aeruginosa* peut envahir la circulation sanguine au niveau du tractus urinaire, et c'est la source de près de 40 % de bactériémies.

#### ❖ Infections gastro-intestinales:

*P. aeruginosa* peut provoquer la maladie dans n'importe quelle partie du tube digestif, de l'oropharynx au rectum. Comme dans d'autres formes de la maladie, celles impliquant le tractus gastro-intestinal surviennent principalement chez les sujets immunodéprimés. L'organisme a été mis en cause dans les infections péri rectales, diarrhées infantiles, gastro-entérites typiques et entérocolites nécrosantes. Le tube digestif est également un portail d'entrée important dans les septicémies et les bactériémies.

#### ❖ Infections de la peau et des tissus mous :

Y compris les infections des plaies, pyodermites et une dermatite. *P. aeruginosa* peut provoquer une variété d'infections de la peau, à la fois localisées et diffuses.

#### ❖ Bactériémies et septicémies:

Chez les patients immunodéprimés, la plupart des bactériémies à *P. aeruginosa* sont acquises

dans les hôpitaux et maisons de soins infirmiers.

❖ **Autres infections:**

*P. aeruginosa* peut coloniser l'épithélium oculaire au moyen d'une fixation à des récepteurs fimbriaux. Si les défenses de l'environnement sont défaillantes, la bactérie peut se multiplier rapidement et produire des enzymes telles que l'élastase, la protéase alcaline et une exotoxine, et causer une infection rapidement destructrice qui peut entraîner la perte de l'œil entier.

**2.2. Chez *Acinetobacter baumannii***

La majorité des infections à *A.baumannii* touchent souvent les organes contenant des niveaux élevés de fluides comme les voies urinaires, les voies respiratoires, la cavité péritonéale, et le sang [37].

❖ **Pneumonies nosocomiales:**

La pneumonie nosocomiale est l'une des manifestations cliniques fréquentes d'*A.baumannii*. Elle survient souvent chez les malades en réanimation et de façon tardive, la bactérie doit atteindre les voies respiratoires Inférieures et les coloniser. Les patients ventilés mécaniquement sont exposés à la transmission des micro-organismes virulents à travers une sonde endotrachéale [38].

La mortalité par ce type d'infection est non négligeable. Des études ont relevé que cette mortalité attribuable était d'autant plus élevée que la pneumopathie était due au genre *Acinetobacter*[38].

❖ **Pneumonies communautaires acquises :**

La pneumopathie communautaire acquise à *A. baumannii* est fulminante, elle est associée à une bactériémie, un syndrome de détresse respiratoire aiguë, une coagulation intravasculaire disséminée avec décès précoce[39].

❖ **Bactériémies et septicémies:**

Leur origine n'est pas toujours clairement identifiée mais peut être la conséquence de

cathétérisations (cathéters Intravasculaires centraux, sondes ou drains), de pneumopathies, elles peuvent également être d'origine traumatique, chirurgicale ou suite à de grandes brûlures[40].

❖ **Infections urinaires :**

Classiquement, cette bactérie est retrouvée en présence d'un cathéter urinaire. La colonisation est fréquente et la différenciation d'une infection est souvent délicate [41].

❖ **Infections de la peau et des tissus mous :**

C'est la deuxième cause d'infection chez les grands brûlés [15]. *A. baumannii* est responsable de plusieurs infections cutanées et des tissus mous acquises dans les unités de soins intensif [41, 42] .

❖ **Méningites:**

*A.baumannii* est l'un des agents pathogènes impliqués dans l'épidémiologie microbienne des méningites nosocomiales[42]

❖ **Autres manifestations:**

*A.baumannii* peut être la cause d'endocardites sur prothèse, de péritonites, d'ophtalmies, ou encore de kératites post chirurgicales [43].

**CHAPITRE 3.  
RESISTANCE AUX  
ANTIBIOTIQUES**

Généralement, les bacilles à Gram négatif non fermentants sont naturellement résistants à de nombreux antibiotiques et peuvent acquérir de nombreux mécanismes de résistance comme pour les bêta-lactamines, les aminosides et les fluoroquinolones. C'est pourquoi la réalisation d'un antibiogramme est nécessaire pour choisir au mieux le traitement antibiotique et l'adapter en fonction du site de l'infection. Ces germes sont capables de résister à de nombreux antibiotiques grâce à une membrane externe peu perméable et grâce au développement de nombreux mécanismes de résistances (bêta-lactamases, imperméabilité sélective ou non en relation avec les porines, modification des protéines liant la pénicilline, modification d'affinité de certaines enzymes...).

Ces bactéries peuvent être sélectionnées par une antibiothérapie à large spectre et devenir progressivement multi-résistantes aux antibiotiques diffusant au sein des établissements de soins [44].

### **3.1. *Pseudomonas aeruginosa***

#### **3.1.1. Résistance Naturelle**

Le bacille pyocyanique a pour caractéristique essentielle une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques et une grande capacité d'acquisition de nouvelles résistances dont les mécanismes ne cessent d'évoluer, imposant aux spécialistes la nécessité d'une actualisation permanente étant donné l'importance de cette bactérie pathogène opportuniste au cours des infections nosocomiales[45].

La résistance intrinsèque de *P. aeruginosa* résulte de l'action combinée de plusieurs mécanismes : mauvaise perméabilité de la membrane externe, présence de nombreuses pompes d'efflux inductibles (induites uniquement en présence de l'antibiotique), production de biofilm et production constante d'une céphalosporinase et d'une pénicillinase induite, ce qui tend, soit à inactiver les antibiotiques, soit à les empêcher d'atteindre leur cible intracellulaire [46].

Tous ces mécanismes sont souvent actifs en même temps aboutissant à des phénotypes de multi-résistance.

#### **3.1.2. Résistance Acquise**

La résistance acquise résulte d'une modification du matériel génétique permettant à tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la

même espèce. Elle peut être soit chromosomique (mutation d'un gène) ou extra-chromosomique (acquisition de gènes) [47].

### 3.1.2.1. Mécanismes enzymatiques

#### ● Résistance aux bêta-lactamines

- Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC par mutation d'un gène de régulation : « céphalosporinase dérégulée ».

Les souches, ainsi modifiées, deviennent résistantes à toutes les bêta-lactamines sauf les amidinopénicillines (Pivmecillinam) et les carbapénèmes. La mutation peut survenir inopinément au cours d'un traitement et entraîner des échecs thérapeutiques. Il existe différents niveaux de dérégulation de la céphalosporinase (la plupart des souches ne sont que partiellement dérégulées), et le niveau de résistance est proportionnel à la quantité d'enzyme produite [48] .

- Acquisition de pénicillinases plasmidiques

Ces enzymes sont étroitement liées et ne diffèrent que par 1 ou 2 acides aminés. Ces pénicillinases hydrolysent les carboxypénicillines, les uréidopénicillines et la cefsulodine, et sont inactives sur la ceftazidime et les carbapénèmes [49].

-Acquisition de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE).

Ce sont des enzymes plasmidiques, elles hydrolysent toutes les bêta-lactamines jusqu'aux C<sub>3</sub>G, restaurées théoriquement par les inhibiteurs de bêta-lactamases, avec une sensibilité conservée à l'imipénème. Elles sont très rarement rapportées chez *P.aeruginosa* [50].

- Acquisition de carbapénémases[51]

Les carbapénémases sont des métalloprotéines chromosomiques ou plasmidiques conférant une résistance aux carboxypénicillines, aux céphalosporines et à l'aztréonam, ainsi qu'un bas niveau de résistance à l'imipénème. Les carbapénémases sont redoutables car elles induisent une résistance de haut niveau à toutes les bêta-lactamines. La sensibilité à la pipéracilline et à l'aztréonam est conservée.

En cas d'association de ce mécanisme à un mécanisme d'imperméabilité, on obtient un haut niveau de résistance à l'imipénème.

**• Résistance aux aminosides**

Le mécanisme majeur de la résistance aux aminosides repose sur la modification enzymatique de certains groupements chimiques de ces antibiotiques. Trois classes d'enzymes ont été décrites chez *P. aeruginosa* : les N-amino-acétyltransférases (AAC) qui catalysent l'acétylation des fonctions  $-NH_2$ , les O-phosphotransférases (APH) et les O-nucléotidyltransférases (ANT) qui permettent respectivement la phosphorylation et la nucléotidylation des fonctions  $-OH$ [53]. La modification des AAC participe à la résistance de cette espèce à la plupart des aminosides utilisés en thérapeutique (gentamicine, tobramycine, nétilmicine et amikacine)[52].

**3.1.2.2. Mécanisme non enzymatiques :**

- Acquisition par mutations de systèmes d'efflux actif [54]

Les mutations aboutissent à la surproduction des pompes transmembranaires permettant d'expulser l'antibiotique hors de la bactérie, en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de la membrane cytoplasmique.

Le niveau de résistance est moindre que chez les souches productrices de  $\beta$ -lactamases.

Parmi les carbapénèmes, seul le méropénème peut être affecté par un mécanisme d'efflux.

- Mutation de la porine D2 (mutants oprD-) :

La porine sert comme un canal d'entrée de l'imipénème. L'association d'une hydrolyse partielle par la céphalosporinase chromosomique et la mutation de la porine induisent une résistance sélective à l'imipénème. La sensibilité au méropénème est conservée [55].

- Perméabilité : diminution des mécanismes de transport actif de l'antibiotique dans la bactérie, responsable d'une résistance de bas niveau à tous les aminosides[56].

**3.2. *Acinetobacter baumannii*****3.2.1. Résistance naturelle**

*A.baumannii* est une espèce qui dispose d'un arsenal enzymatique extrêmement vaste et divers pour contrecarrer l'action antibiotique. cette espèce possède des mécanismes de résistance naturelle aux bêta-lactamines, correspondant principalement à la production d'une céphalosporinase chromosomique (bêta-lactamase de type AmpC ). Ce mécanisme peut être hyperproduit lorsque la séquence d'insertion ISAbal apportant des séquences

promotrices fortes est insérée en amont du gène codant pour cette AmpC.

*A.baumannii* possède également de manière naturelle une oxacillinase, ayant une faible activité carbapénèmase qui est l'OXA-69 [57].

### 3.2.2. Résistance acquise

Les espèces d'*Acinetobacter* sont des bactéries marquées par leur extrême capacité à acquérir des mécanismes de résistance vis-à-vis de la plupart des nouveaux antibiotiques. Les mécanismes de résistance sont extrêmement nombreux : production de céphalosporinases, production de pénicillinases plasmidiques, acquisition de plasmides ou de transposons codant pour des enzymes modifiant les aminosides, mutations de l'ADN-gyrase provoquant une résistance aux quinolones, résistance plasmidique au triméthoprim, transposon codant pour une acétyltransférase inhibant le chloramphénicol, mécanismes d'imperméabilité, mécanismes d'efflux...[58].

La résistance acquise correspond, à l'acquisition d'une résistance à un antibiotique par une souche d'*Acinetobacter* normalement sensible ; cette résistance est évolutive [59].

La prise en charge des infections à *A.baumannii* est difficile en raison de sa capacité à acquérir la multi-résistance, laissant seulement quelques antibiotiques à utiliser. En effet, *A.baumannii* combine l'acquisition des gènes de résistance et la surexpression de pompes d'efflux pour survivre dans les milieux hospitaliers [59].

Le support génétique de la résistance peut être :

- Chromosomique, par mutation ; il s'agit d'une résistance spontanée, rare, spécifique de l'antibiotique et stable ; la transmission est verticale (descendance de la souche).
  
- Extra chromosomique, avec échange de matériel génétique par plasmides ou par transposons ; plus fréquent, ce type de résistance est instable (la souche peut perdre son plasmide et redevenir sensible, en l'absence du facteur de sélection représenté par l'antibiotique) ; la transmission est verticale et horizontale [60].

#### 3.2.2.1. Mécanismes enzymatiques

- **Résistance aux bêta-lactamines**



- Production de bêta-lactamases : les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) : Les BLSE

identifiées chez *Acinetobacter baumannii* sont SHV, TEM, PER, VEB, et CTX-M [61]. Les souches possédant le gène PER-1 démontrent une résistance élevée aux pénicillines et aux céphalosporines à spectre étendu.

- Production de carbapénémases, responsables de l'hydrolyse des carbapénèmes : type métallo bêta lactamases (IMP, VIM et SIM-1) et les nouvelles carbapénémases de type KPC-like, GES-like, et le New Delhi metallo-bêta-lactamase-1 (NDM-1)[62].

- Production des bêta-lactamases de type AmpC, le principal déterminant de la surexpression de cette enzyme est la présence en amont d'une séquence d'insertion (IS) appelé ISAb1, la présence de cet élément est fortement associée à la résistance aux céphalosporines à spectre étendu [63].

- Production des oxacillinases (OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143). Les oxacillinases sont responsables de la majorité des résistances aux carbapénèmes observée dans le monde [64].

#### ● Résistance aux Aminoglycosides

- La résistance aux aminoglycosides est aussi attribuée aux enzymes appelée « Aminoglycoside Modification Enzyme » (AME) :

- les acétyl-transférases : confèrent la résistance à la kanamycine, la tobramycine, et la dibékacine ;

- les adényltransférases : confèrent la résistance à la streptomycine et la gentamycine ;

- les phosphotransférases : inactivent l'amikacine [48, 65] ;

#### 3.2.2.2. Mécanismes non enzymatiques

Les mécanismes de résistance non enzymatiques chez *A.baumannii* sont moins fréquents mais font l'objet d'un nombre croissant de publications.

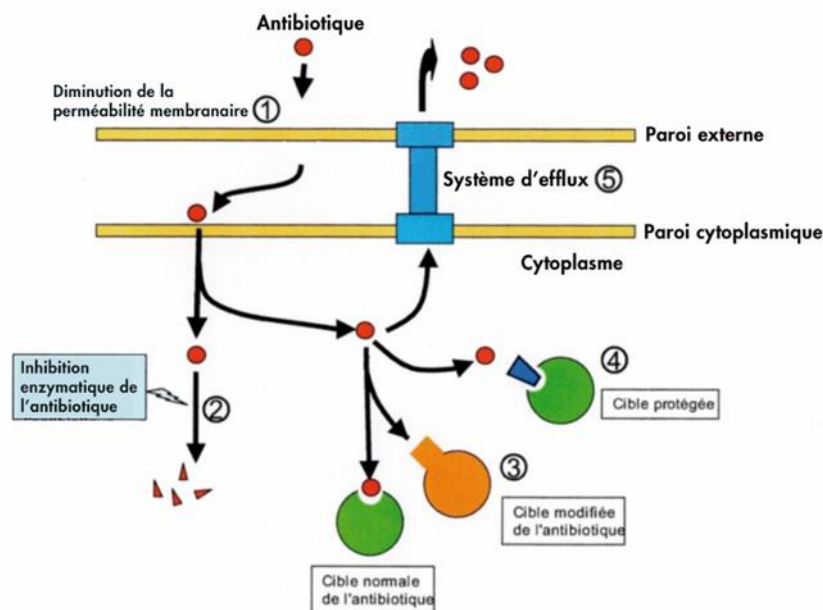
#### ● Résistance aux bêta-lactamines

- La résistance aux bêta-lactamines a été attribuée à l'altération de la structure ou au nombre de protéines de membrane externe, la présence de pompes d'efflux et la modification de l'affinité ou de l'expression de protéines de liaison à la pénicilline (PBP) [66].

D'autres OMP impliquées dans la résistance aux bêta-lactamines ont été identifiées ; la Heat-Modifiable Protein (HMP-AB) et l'OMPW [67].

- Le mécanisme majeur de résistance aux carbapénèmes est codé pour une large gamme de systèmes d'efflux. La pompe d'efflux AdeABC constitue le mécanisme majeur de résistance aux carbapénèmes. Cette pompe possède plusieurs substrats dont les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones [49].

- outre la pompe Ade ABC, la pompe Abe M est impliquée dans le mécanisme d'efflux des aminoglycosides.



- (1) Diminution de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie.
- (2) L'antibiotique peut être inactivé par l'action d'une enzyme.
- (3) La modification de la cible empêche la fixation de l'antibiotique.
- (4) La protection de la cible empêche la fixation de l'antibiotique.
- (5) Les systèmes d'efflux provoquent une élimination de l'antibiotique hors de la cellule.

**Figure 3.** Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (1 à 5) tirée de : <https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance>.modifiées Consulté le : 24/06/2020

**PARTIE II.  
METHODOLOGIE  
DE DIAGNOSTIC**

### 1. Lieu du stage

Notre travail a été réalisé au niveau du Service de Microbiologie et de Parasitologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC).

### 2. Type et durée de l'étude

Il s'agit :

- d'une étude rétrospective d'une année et 6 mois (**année 2019-2020** et 6 mois de l'année **2021**) basée sur l'interprétation des résultats à partir des registres et des antibiogrammes des archives du laboratoire de Microbiologie de l'HMRUC.

- d'une étude prospective **d'un mois (du 13 juin au 13 juillet 2021)**.

Ces deux études se sont basées sur le recueil de données ou l'isolement de souches *de Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii* de patients hospitalisés ou traités en externe. Les souches émanant de patients hospitalisés provenaient de plusieurs services (urgences, urologie, réanimation, orthopédie ....).

### 3. Matériel et Méthodes

Le prélèvement étant effectué par le médecin traitant au niveau du service concerné, il est ensuite acheminé directement au niveau du laboratoire (pus, prélèvement de sang, prélèvements urinaires, Prélèvement broncho-pulmonaire ...).

Les souches de *P. aeruginosa et d'A.baumannii* ont été isolées à partir de différents prélèvements à savoir : les liquides d'aspiration bronchique, les pus, les urines, les liquides de ponction, les sondes urinaires, les hémocultures, les prélèvements vaginaux....etc. (annexe 1)

#### 3.1. Isolement

L'isolement des souches de *P. aeruginosa et A.baumannii* a été fait de la même manière, il est obtenu par culture sur milieux sélectifs : (Chapman - Hektoen - Gélose au sang - Mueller-Hinton - Gélose Nutritive et le milieu Cled, ce dernier est utilisé dans l'examen cytobactériologiques des urines (ECBU).

A l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie, l'ensemencement est effectué dans une boîte de Pétri contenant la gélose nutritive par la méthode des quadrants à partir d'une suspension dans de l'eau distillée stérile. L'incubation est effectuée pendant 24 heures à 37°C.

Pour *P. aeruginosa*, chaque colonie présentant une pigmentation bleu verte est repiquée 2 à 3 fois sur le même milieu dans le but d'avoir des cultures pures.

### 3.2. Identification

L'identification bactérienne est orientée d'abord par les examens macroscopique et microscopique.

#### 3.2.1. Examen macroscopique

L'examen est appliqué principalement sur la gélose Hektoen, basé sur la recherche des caractéristiques suivantes : couleur, pigmentation, forme, aspect de surface, aspect des bords de colonies, consistance, opacité et fermentation du lactose.

Ces caractéristiques macroscopiques de colonies sont les plus impliqués dans la connaissance des genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter*.

#### Concernant *Pseudomonas aeruginosa* :

- colonies de grande taille avec un aspect bombé au centre présentant le reflet métallique et au contour irrégulier ;
- l'une des souches présente une pigmentation ;
- une odeur caractéristique de fleur de « Jasmin ».
- une couleur bleu-verte.



**Figure 4.** Culture de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu Hektoen

**Concernant *Acinetobacter baumannii* :**

- colonies isolées de petite taille ;
- aspect lisse, circulaire, convexe.



**Figure 5.** Culture d'*Acinetobacter baumannii* sur gélose nutritive

### 3.2.2. Examen microscopique

D'abord par l'examen direct entre lame et lamelle à l'état frais qui permet de compter les leucocytes, et les cellules épithéliales..., puis une coloration de Gram qui permet aussi d'orienter le choix de la galerie des examens biochimiques.

Cette identification se fait par l'exploration des caractères biochimiques des germes sur galerie classique (fermentation des sucres, réduction des nitrates, recherche d'enzymes telle l'oxydase, l'ADN ase, la catalase...) ou éventuellement par la galerie API (analytic profil index) ou sur automate (BD Phoenix).

#### 3.2.2.a. Examen à l'état frais

##### • Principe

Le but de cette étape est de déterminer la mobilité, la morphologie, le regroupement, la densité des germes et éventuellement la présence de levures, de cristaux ou de cellules sanguines.

L'étude de la cytologie se fait directement sur un hématimètre type cellule de Nageotte qui permet de compter le nombre de cellules de l'inflammation dans un prélèvement pathologique. Cette étude est surtout réalisée sur le LCR, les ponctions et les urines. Elle est qualitative et quantitative.

##### • Technique

- À partir de chaque colonie isolée de *P. aeruginosa* et *d'A.baumannii*, préparer une suspension bactérienne avec de l'eau distillée ;
- Déposer ensuite une goutte de la préparation sur une lame propre grâce à une pipette pasteur ou à l'anse de platine ;
- Recouvrir la goutte d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air ;
- Observer immédiatement au microscope optique à l'objectif x40.

##### \* Pour l'étude de la cytologie

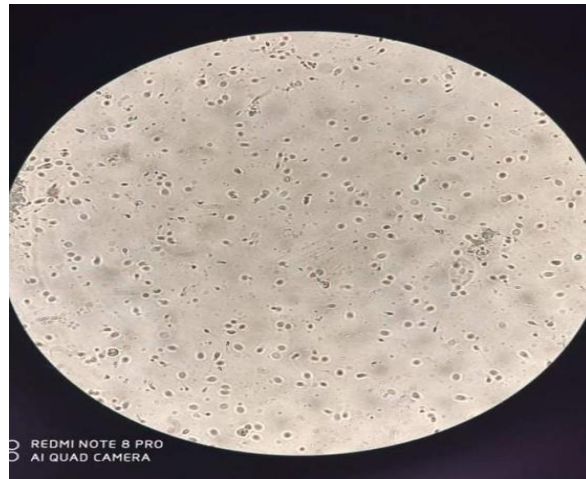
- Remplir par capillarité avec le prélèvement pathologique la cellule de Nageotte préalablement recouverte d'une lamelle ;
- Placer sur un microscope optique à l'objectif x40 ;

- Attendre quelques minutes pour permettre le dépôt de cellules ;
- Compter le nombre de cellules et déterminer leur nature (polynucléaires, lymphocytes).

- **Lecture**

**Concernant *P.aeruginosa***

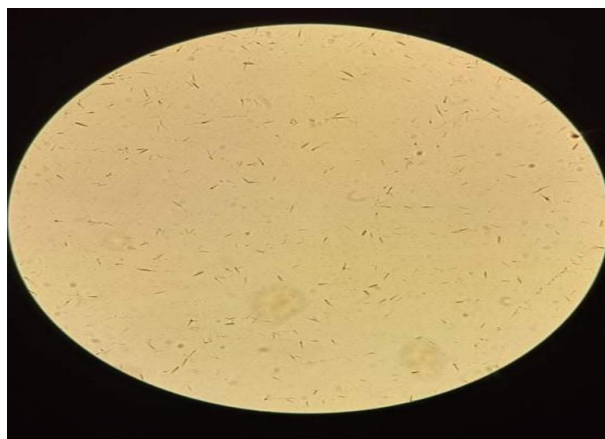
- Bacilles isolés très mobiles se déplaçant en ligne droite grâce à un flagelle polaire unique.



**Figure 6.** Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* à objectif x40

**Concernant *A.baumannii***

- Coccobacilles immobiles.



**Figure 7.** Aspect d'*Acinetobacter baumannii* à objectif x40



**3.2.2.b. Examen après coloration****➤ Coloration au bleu de méthylène****• Principe**

La coloration au bleu de méthylène (BM) permet de confirmer la cytologie et de différencier les cellules inflammatoires (polynucléaires, lymphocytes), de distinguer la forme, la disposition (intra ou extracellulaires), ainsi que le mode de regroupement.

**• Technique****a) Préparation du frottis**

- Déposer sur une lame propre une goutte de suspension bactérienne, l'étaler ensuite sur la lame du centre vers l'extérieur ;
- Sécher et fixer le frottis en 2 ou 3 passages à la flamme d'un bec Bunsen.
- Laisser refroidir avant d'entamer la coloration.

**b) Coloration**

- Couler une solution du bleu de méthylène sur le frottis ;
- Laisser un temps de contact de 1 à 10 min ;
- Rincer la lame à l'eau du robinet ;
- Sécher entre deux feuilles de papier buvard ;
- Observer au microscope à immersion, au Gx100 ;
- Les structures colorables apparaissent bleues.

**• Résultats**

- Les noyaux des cellules apparaissent plus foncés, ce qui permet de différencier facilement entre les différentes cellules (polynucléaires, lymphocytes, cellules épithéliales...).

- Les bactéries sont colorées en bleu sombre. Cette coloration permet une observation rapide des frottis.

➤ **Coloration de Gram**

• **Principe**

Après l'application du violet de gentiane et de la solution de Lugol (iodo-inodurée), l'iode va fixer le colorant précédent. Il se forme un complexe coloré dans les cellules et toutes sont colorées en bleu-violet, ce complexe sera solubilisé par l'alcool à 95° lors de la phase de décoloration uniquement pour les bactéries à Gram négatif. Ainsi, les bactéries à Gram positif conservent leur coloration violette. La dernière étape (fuchsine) constitue simplement une coloration de contraste afin de recolorer les bactéries à Gram négatif en rose-rouge pâle.

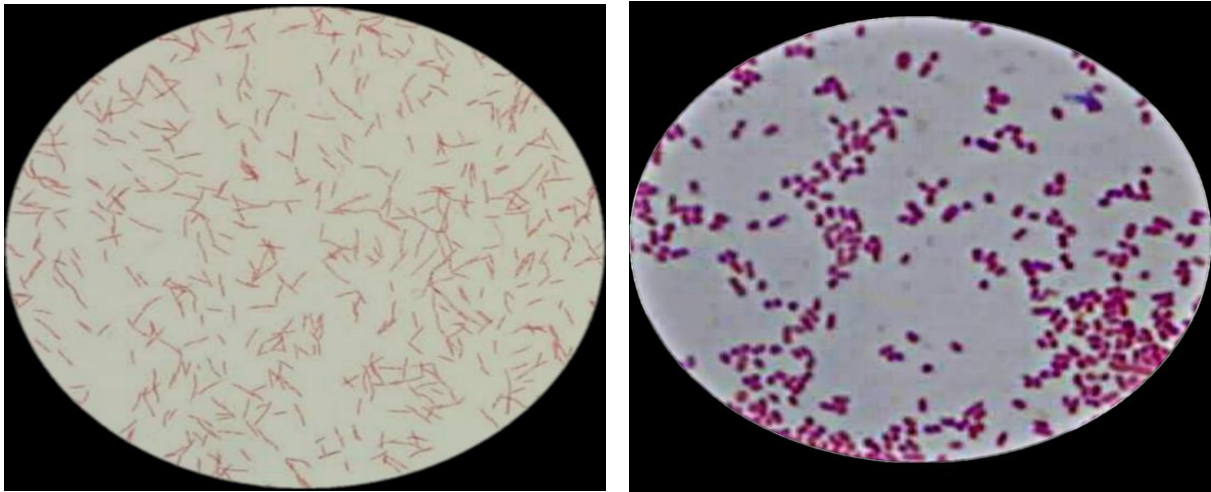
• **Technique**

Après préparation du frottis mentionnée pour la première coloration :

- Etaler une goutte de suspension microbienne sur une lame ;
- Laisser bien sécher à l'air ;
- Recouvrir la lame avec du violet de Gentiane ou Crystal violet ; laisser agir 30sec ;
- Par-dessus ajouter le Lugol 30sec ;
- Eliminer les colorants et décolorer rapidement à l'alcool 30sec ;
- Rincer à l'eau pour arrêter la décoloration ;
- Recouvrir la lame de Fuchsine ou de safranine 1 min ;
- Rincer à l'eau et laisser sécher à l'air (ou à la flamme) ;
- Observer à l'objectif GX 100 avec l'huile à immersion.

• **Résultats**

A la coloration de Gram, *P. aeruginosa* et *A.baumannii* apparaissent sous forme des bacilles à Gram négatif (colorés en rose).



*P. aeruginosa*

*A.baumannii*

**Figure 8.** Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* après coloration de Gram à objectif x100

### 3.2.3. Identification biochimique

#### 3.2.3.a. Test de l'oxydase

##### • Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme de la chaîne respiratoire : le cytochrome oxydase. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthyle-paraphénylène-diamine. Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, libère un composé violet.

##### • Technique

- Déposer un disque d'oxydase sur une lame, l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ;
- Prélever une colonie sur un milieu gélosé avec une pipette pasteur boutonnée et la déposer sur le disque.

##### • Lecture

La présence d'un cytochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette (rose violacée) en 20 à 60 secondes.

**• Résultats****Concernant *P. aeruginosa* :**

- apparition d'une coloration violette du disque ;
- *P. aeruginosa* est oxydase positif.



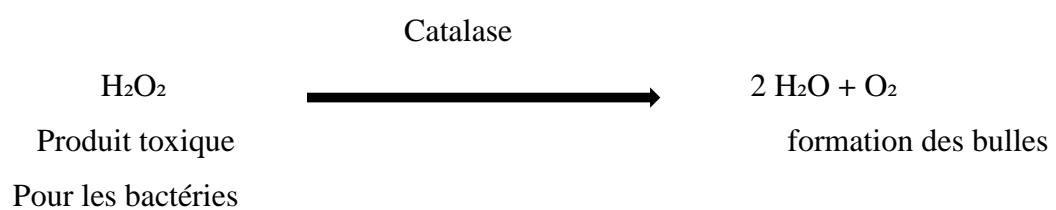
**Figure 9.** *P.aeruginosa* : oxydase positive

**Concernant *A.baumannii* :**

- absence de la coloration violette du disque ;
- *A.baumannii* est oxydase négatif.

**3.2.3.b. Test de la catalase****• Principe**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) :



Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Si elles possèdent une catalase, elles dégradent l'  $H_2O_2$  en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

#### • Technique

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte de l'eau oxygénée à 10 volumes ;
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien ;
- Observer immédiatement ;
- Au contact d'une colonie isolée ou sur la pente d'une culture en gélose, déposer une goutte d'eau oxygénée ;
- Observer immédiatement.

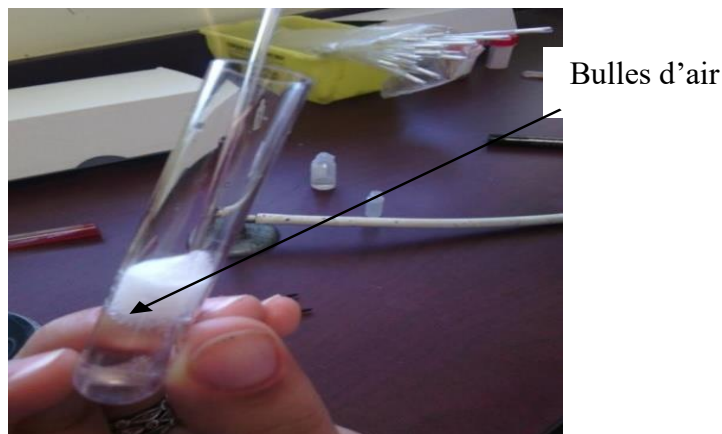
#### • Résultats

##### Concernant *P. aeruginosa* :

- absence de formation de bulles d'air indiquant que la bactérie ne possède pas l'enzyme qui catalyse la dégradation de peroxyde d'hydrogène pour libérer l' $O_2$ .
- *P. aeruginosa* est catalase négatif.

##### Concernant *A.baumannii* :

- formation des bulles indiquant que la bactérie possède l'enzyme qui catalyse la dégradation de peroxyde d'hydrogène pour libérer l' $O_2$
- *A.baumannii* est catalase positif.



**Figure 10.** Résultat positif pour la recherche de catalase [68]

### 3.2.3.c. Recherche des pigments spécifiques de *Pseudomonas*

#### Principe

Cette recherche a été réalisée sur les milieux King A et King B qui permettent de différencier les espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques [69] :

- la production de pyocyanine, due spécifiquement à *P. aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques et de certains acides aminés qui composent le milieu King A
- la production de pyoverdine, caractéristique du groupe fluorescent, dépendant de la nature des peptones, est favorisée par la teneur élevée en phosphate présent dans le milieu King B [70].



**Figure 11.** Milieux King A et King B [68]

#### Technique :

- Ensemencer les deux milieux : King A et King B en faisant une strie médiane ou des stries serrées à la surface de la gélose.
- Fermer les tubes sans serer et incuber à 30°C pendant 1 à 4 jours [71].

**Lecture :**

La présence de pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la pente [70].

- **Sur le milieu King A**

Les colonies typiques sur ce milieu sont colorées en bleu vert (pyocyanine), parfois en brun rose (pyorubine).

La pyocyanine est extraite par le chloroforme (Verser 0,5 ml de chloroforme à l'aide d'une pipette Pasteur sur la culture, les laisser 10 à 15 min en position inclinée. La pyocyanine très soluble dans le chloroforme, le colore en bleu) [71].

- **Sur le milieu King B**

La production de pyoverdine se manifeste par une coloration jaune-verte, avec une fluorescence observée à la table UV. Ce pigment est insoluble dans le chloroforme [70].

**3.2.3.d. Galerie biochimique API 20NE**

L'utilisation des galeries biochimiques (Appareillages et Procédés d'Identification (BD PHOENIX) et (galeries classiques) a été effectuée.

- **Principe**

La galerie biochimique API 20NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires et non fastidieux, mettant en évidence leurs caractères biochimiques. Cette galerie comprend 21 tests biochimiques sous forme de micro-tubes miniaturisés, contenant des substrats déshydratés. Ce test est fondé sur la recherche d'activité enzymatique, ce qui permet une identification en 24 à 48 heures de 90 à 95 % des souches.

- **Technique**

**Préparation de la Galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;

- Sortir la galerie de son emballage individuel ;
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

### **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) ;
- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique ;
- Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures) ;
- Réaliser une suspension qui doit être bien homogénéisée. Une densité suffisante est exigée (0,5 MF).

### **Inoculation de la galerie**

-Remplir les tubes des tests NO<sub>3</sub> à ONPG avec la suspension précédente en utilisant la micropipette ayant servi au prélèvement. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la micropipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant comme suit :

- Les tubes et cupules des tests GLU à PAC sont remplis en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Enfin, les cupules des 3 tests soulignés (GLU, ADH, URE) sont remplies d'huile de paraffine en formant un ménisque convexe.
- A la fin, la boîte est refermée et est mise en incubation à 37°C pendant 24 heures.

### **• Résultats**

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

La révélation des deux tests NO<sub>3</sub> et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à l'abri d'une contamination par l'air ; pour cela placer le couvercle de la boîte d'incubation au-dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO<sub>3</sub> et TRP.





**Figure 12.** Résultat de la galerie API 20 NE

● **Test NO<sub>3</sub>**

- Ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule NO<sub>3</sub>.
- Après 5 minutes, une couleur rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Une réaction négative peut être due à la production d'azote ; ajouter 2-3 mg de poudre de zinc dans la cupule NO<sub>3</sub>.
- Après 5 minutes, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats.

\*Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative, car les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le zinc.

● **Test TRP**

Ajouter 1 goutte de réactif de James. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

● **Tests d'assimilation**

Observer la pousse bactérienne. Une cupule trouble indique une réaction positive. Des pousses d'intensité intermédiaire peuvent être observées et notées +/-.

● **Interprétation**

L'identification a été réalisée à l'aide du logiciel d'identification.

### 3.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

#### 3.3.1. Technique de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques

##### • Principe

L'antibiogramme est une technique de laboratoire utilisée après l'isolement et l'identification de microorganisme à étudier, on peut tester la sensibilité des bactéries à divers antibiotiques à concentration connue, il permet de sélectionner les antibiotiques actifs sur la bactérie afin d'agir et éviter la prolifération du germe étudié.

Les disques des antibiotiques testés pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont les suivants.

##### • Technique

###### Réalisation d'une suspension

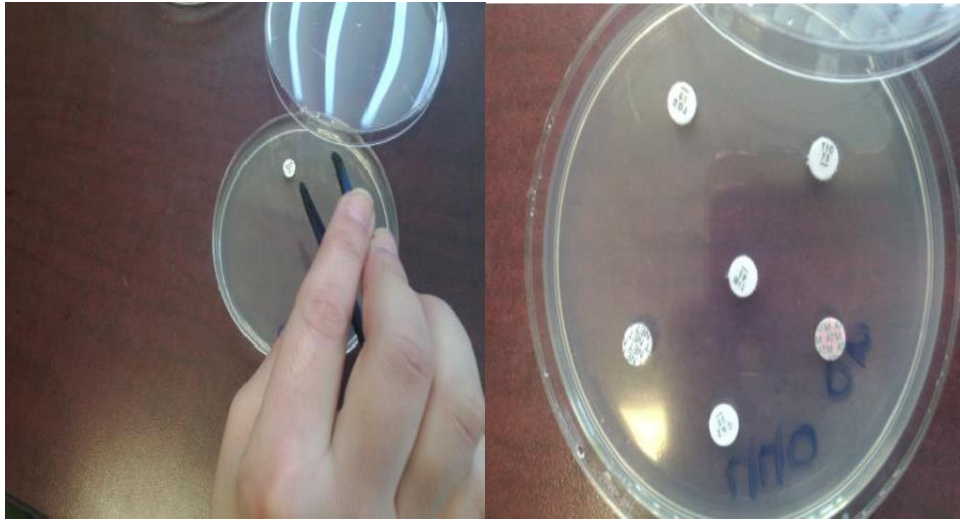
- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture pure de 18 heures sur un milieu d'isolement ;
- Mettre ces colonies en suspension (avec 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile).

###### Ensemencement

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum. Il est réalisé par le trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ensuite son essorage en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. Enfin l'ensemencement est réalisé par frottement de l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de la boîte de Pétri (milieu de Mueller-Hinton) ;
- Cette opération est répétée deux fois en tournant la boîte 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;
- Passer enfin l'écouvillon sur le bord de la gélose.

###### ➤ Application des disques

- Les disques choisis sont posés à l'aide d'une pince stérile. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés pour que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.



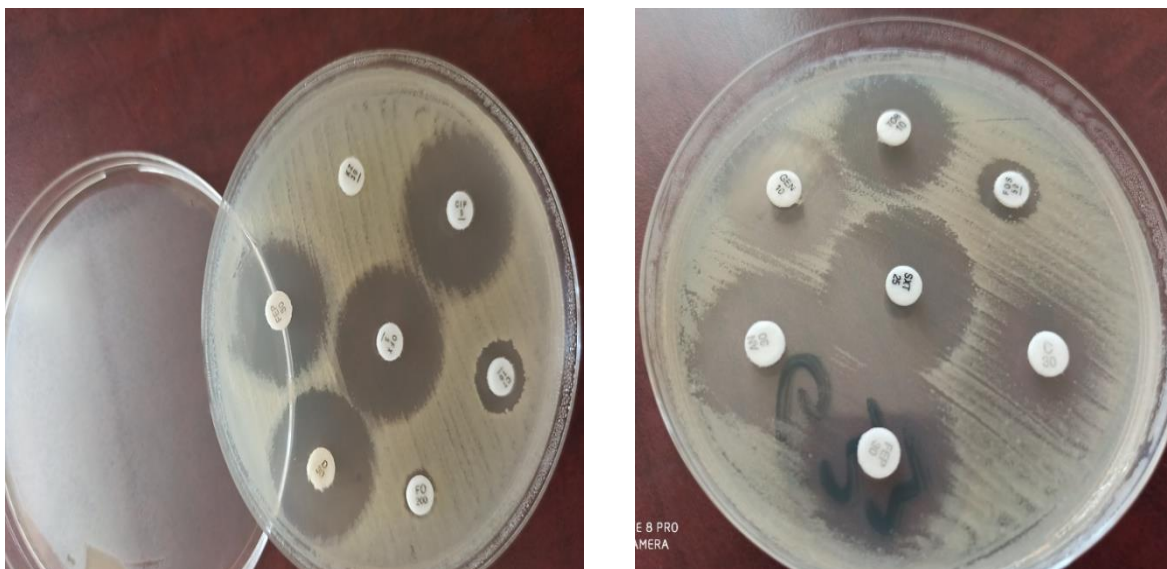
**Figure 13.** Application des disques d'antibiotiques [68].

- **Lecture**

- Après incubation, il apparaît des zones claires autour des disques ayant des diamètres variables : ce sont des zones d'inhibition ou de sensibilité ; la lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antibiotique à l'aide d'un pied à coulisse métallique de la boîte fermée ;

-Les valeurs retrouvées sont comparées aux valeurs critiques reportées dans la table de lecture afin de classer les bactéries dans l'une des classes : Sensibles, Intermédiaires ou Résistantes ; en fonction des antibiotiques testés.

Nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme selon la recommandation et les normes du CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) [72].



**Figure 14.** Zones d'inhibition des antibiotiques testés

**Tableau 3.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* selon les normes du CLSI

Famille d'ATB	Disque d'ATB Testé	Abréviation	Charge du disque (µg)	Diamètre critique (mm)		
				R	I	S
bêta-Lactamines	Ticarcilline	TIC	75 µg	14	.....	15
	Ticarciline+ac. clavulanique	TIM	75/10µg	14	.....	15
	Pipiracilline	PRL	100 µg	17	.....	18
	Ceftazidime	CAZ	30 µg	14	15-17	18
	Aztréonam	ATM	30 µg	15	16-21	22
	Imipénème	IMP	10 µg	13	14-15	16
Aminosides	Amikacine	AK	30 µg	14	15-16	17
	Gentamicine	GN	10 µg	12	13-14	15
	Tobramycine	TOB	10 µg	12	13-14	15
	Nétilmicine	NET	30 µg	12	13-14	15
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	15	16-20	21
Fluroquinolones	Lévofloxacine	LEV	5 µg	13	14-16	17
Polypeptides	Colistine	CT	10 µg	10	.....	11
Rifamycines	Rifampicine	RF	30 µg	<14	14 -18	≥19
Acide phosphorique	Fosfomicine	FOS	50+50 µg G6P	<14	.....	≥14

**Tableau 4.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Acinetobacter baumannii* selon les normes du CLSI

Famille d'ATB	Disque d'ATB Testé	Abréviation	Charge du disque (µg)	Diamètre critique (mm)		
				R	I	S
bêta-Lactamines	Ticarcilline	TIC	75 µg	14	15-19	20
	Ticarcilline+ac. clavulanique	TIM	75/10µg	14	15-19	20
	Pipiracilline	PRL	100 µg	17	18-20	21
	Ceftazidime	CAZ	30 µg	14	15-17	18
	Imipénème	IMP	10 µg	13	14-15	16
Aminosides	Amikacine	AK	30 µg	14	15-16	17
	Gentamicine	GN	10 µg	12	13-14	15
	Tobramycine	TOB	10 µg	12	13-14	15
	Nétilmicine	NET	CMI	.....	.....	.....
Fluroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	15	16-20	21
	Lévofloxacine	LEV	5 µg	≤13	14-16	≥17
Polypeptides	Colistine	CT	.....	.....	.....	.....
Rifamycines	Rifampicine	RF	30 µg	<14	14 -18	≥19
Tétracyclines	Doxycycline	DO	30µg	9	10-12	13
Diaminopyrimidines	Triméthoprime sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75 µg	10	11-15	16

**PARTIE III.  
RESULTATS**

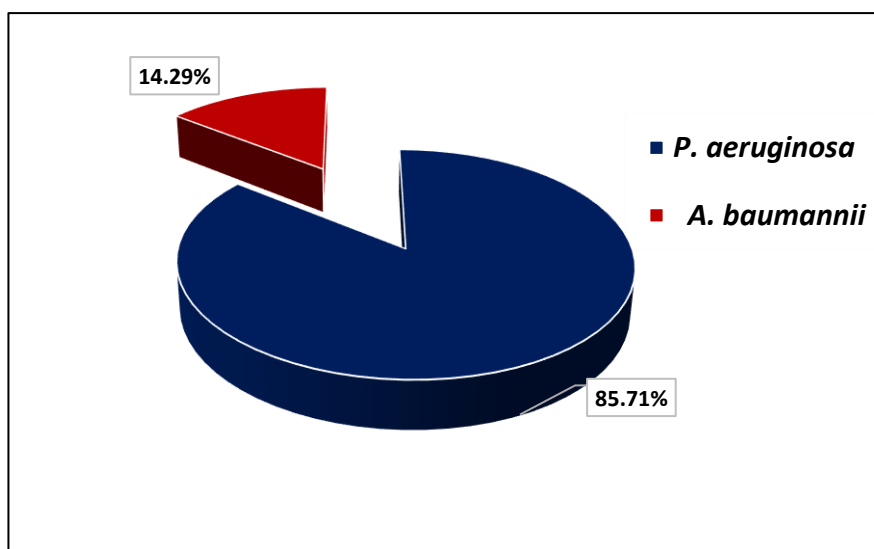
## 1. Caractéristiques épidémiologiques

### 1.1. Répartition globale des souches de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii*

Durant notre étude, 217 souches bactériennes ont été isolées, dont 186 de *P. aeruginosa*, soit 85,71% et 31 d'*A. baumannii* dans 14,29% des cas (**tableau 5, figure15**).

**Tableau 5.** Répartition globale d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii*

Souche bactérienne	Nombre	%
<i>P. aeruginosa</i>	186	85,71
<i>A. baumannii</i>	31	14,29
<i>Total</i>	<i>217</i>	<i>100</i>



**Figure15.** Répartition globale d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii*



### 1.2. Répartition des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le sexe

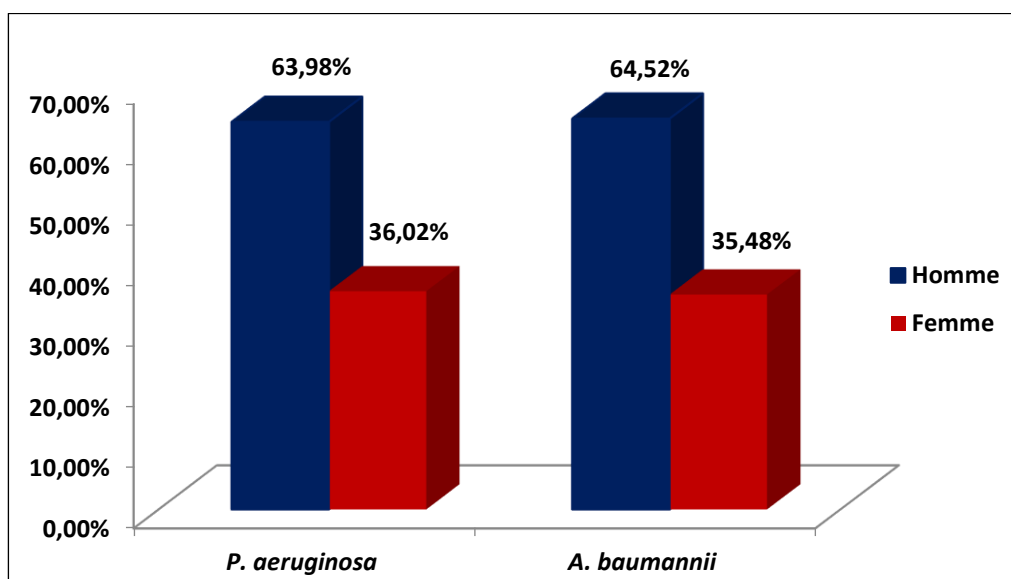
Les infections dues aux deux espèces étaient plus fréquentes chez l'homme que chez la femme.

Parmi les 186 échantillons positifs de *P. aeruginosa*, 119 des patients atteints étaient de sexe masculin avec un taux de 63,98% et 67 cas étaient de sexe féminin avec un taux de 36,02%.

La répartition des isolats d'*A.baumannii* selon le sexe, a montré une prédominance masculine avec 20 souches isolées retrouvées chez des hommes soit 64,52 %, le sexe ratio M/F est de 1,81 (tableau 6, figure16).

**Tableau 6.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le sexe

Espèce	<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>	
	Nombre	%	Nombre	%
<b>Homme</b>	119	63,98%	20	64,52%
<b>Femme</b>	67	36,02%	11	35,48%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100 %</b>	<b>31</b>	<b>100 %</b>



**Figure 16.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le sexe

### 1.3. Répartition des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon l'âge

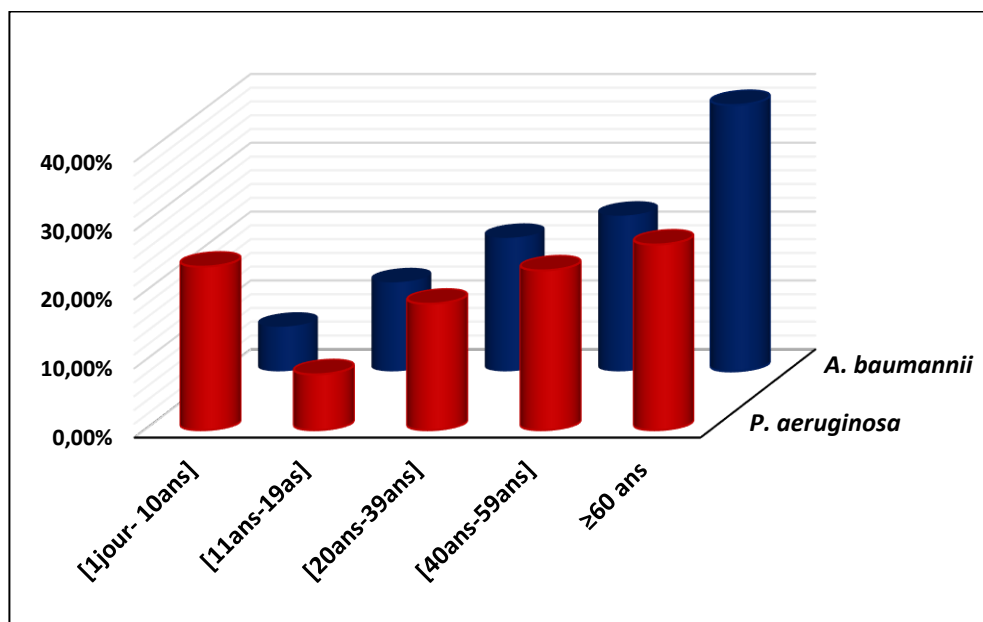
La majorité des souches de *P. aeruginosa* ont été isolées aux deux extrémités de la vie : chez les enfants et les sujet adultes âgés de 60 ans et plus (44 (23,66%) et 50 (26,88%) respectivement).

Chez les autres patients, la répartition des infections à *P. aeruginosa* évoluait avec l'âge : 15 (8,06%), 34 (18,28%) et 43 (23,12%) chez les patients appartenant aux tranches d'âges [11 ans -19ans], [20ans - 39ans] et [40ans à 59ans].

Les infections à *A.baumannii* évoluaient aussi en fonction de l'âge. Durant notre période d'étude, le taux est de 6,45% (2 cas) chez les enfants [1jour à 10ans] et atteint 38,71% (12 cas) chez les patients de plus de 60 ans (**tableau7, figure17**).

**Tableau 7.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon l'âge

Tranche d'âge	<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>	
	Nombre	%	Nombre	%
[1jour- 10]	44	23,66%	02	6,45%
[11-19]	15	8,06%	04	12,90%
[20-39]	34	18,28%	06	19,36%
[40-59]	43	23,12%	07	22,58%
≥ 60	50	26,88%	12	38,71%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100%</b>	<b>31</b>	<b>100%</b>



**Figure 17.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon l'âge

#### 1.4. Répartition des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le service

Les souches de *P. aeruginosa* ont été isolées dans des différents services de l' HMRC, la prédominance s'est manifestée au niveau du service de chirurgie générale avec 16,66% (31 cas) des isolats, suivi respectivement par le service de médecine interne, de médecine ambulatoire et de pédiatrie dans 13,97% (26 cas), 12,90% (24 cas) et 11,83% (22 cas).

Les autres services étaient moins représentés ; il s'agissait du service d'orthopédie avec 9,14 % des isolats (17 cas), les patients en réanimations représentaient 8,06 % des cas (15 cas) et le service d'urologie avec 7,53% des isolats (14 cas).

Les services restants étant peu représentés : le service des urgences avec 4,84% des isolats (9 cas) ; puis le service de pneumologie avec 3,76% des isolats (7 cas) ; la neurologie représentait 3,23% (6 cas) des isolats et le service de néphrologie et de cardiologie 2,15% des isolats (4 cas chacun).

Le reste des isolats provenait des services d'hématologie, d'ORL et de psychiatrie avec 1,08% des cas (2 cas chacun). Pour le dernier service, il s'agissait de la gynécologie représentant 0,54% des isolats (1 seul cas).

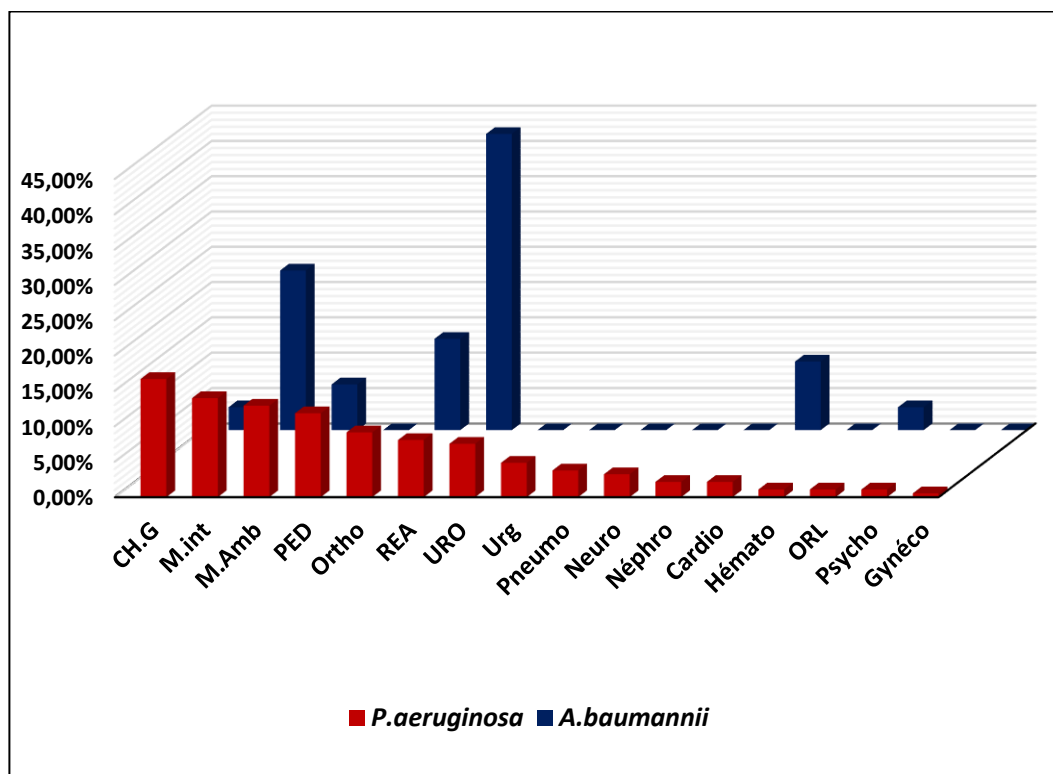
Concernant les souches d'*A.baumannii*, peu de services étaient concernés, ceci était peut-être dû au nombre réduit des souches appartenant à cette espèce bactérienne.

La prédominance s'était manifestée au niveau du service de réanimation avec 41,93% des souches (13 cas), suivi par la médecine interne et le service d'orthopédie avec 22,58% (7 cas) et 12,90% (4 cas) des cas respectivement.

Le service de cardiologie est représenté dans 3 cas (9,68%), les patients consultant à titre externe représentaient 6,45% des cas (2 cas). Quant aux services ORL et de chirurgie générale, le même pourcentage est retrouvé (3,23%, 1 cas chacun) (**tableau 8, figure18**).

**Tableau 8.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le service

Service	<i>P. aeruginosa</i>		<i>A.baumannii</i>	
	Nombre	%	Nombre	%
<b>Chirurgie Générale</b>	31	16,66%	01	3,23%
<b>Médecine Interne</b>	26	13,97%	07	22,58%
<b>Médecine Ambulatoire</b>	24	12,90%	02	6,45%
<b>Pédiatrie</b>	22	11,83%	00	00%
<b>Orthopédie</b>	17	9,14%	04	12,90%
<b>Réanimation</b>	15	8,06%	13	41,93%
<b>Urologie</b>	14	7,53%	00	00%
<b>Urgences</b>	09	4,84%	00	00%
<b>Pneumologie</b>	07	3,76%	00	00%
<b>Neurologie</b>	06	3,23%	00	00%
<b>Néphrologie</b>	04	2,15%	00	00%
<b>Cardiologie</b>	04	2,15%	03	9,68%
<b>Hématologie</b>	02	1,08%	00	00%
<b>ORL</b>	02	1,08%	01	3,23%
<b>Psychiatrie</b>	02	1,08%	00	00%
<b>Gynécologie</b>	01	0,54%	00	00%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100%</b>	<b>31</b>	<b>100%</b>



**Figure 18.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le service

- ❖ **CH.G** : Chirurgie Générale, **M.int** : Médecine Interne, **M.Amb** : Médecine Ambulatoire, **PED** : Pédiatrie, **Ortho** : Orthopédie, **REA** : Réanimation, **URO** : Urologie, **Urg** : Urgences, **Pneumo** : Pneumologie, **Neuro** : Neurologie, **Néphro** : Néphrologie, **Cardio** : Cardiologie, **Hémato** : Hématologie, **ORL** : Oto-rhino-laryngologie, **Psycho** : Psychiatrie, **Gynéco** : Gynécologie.

### 1.5. Répartition des souches de *P. aeruginosa* et *d'A.baumannii* selon la nature du Prélèvement.

L'étude de la répartition des isolats de *P. aeruginosa* selon la nature du prélèvement a révélé la prédominance des souches dans les pus (38,71%, n=72), suivis par les urines (27,42 %, n=51), les prélèvements broncho-pulmonaires (23,66%, n= 44).

L'isolement des souches de *P. aeruginosa* était peu fréquent à partir des liquides biologiques comme le liquide céphalorachidien (LCR) (4,83%, n= 09), le sang (1,61%, n= 03) et le liquide péritonéal (1,08%, n= 02).

L'espèce a été rarement isolée à partir de biopsie de tissus (1,61%, n= 03) et d'autres sites comme ceux au niveau de la cavité buccale (1,08%, n= 02).

Concernant la répartition des isolats d'*A.baumannii* selon la nature du prélèvement, les résultats obtenu sont révélé aussi la prédominance des souches au niveau du pus dans 29, 03% des cas (n=9).

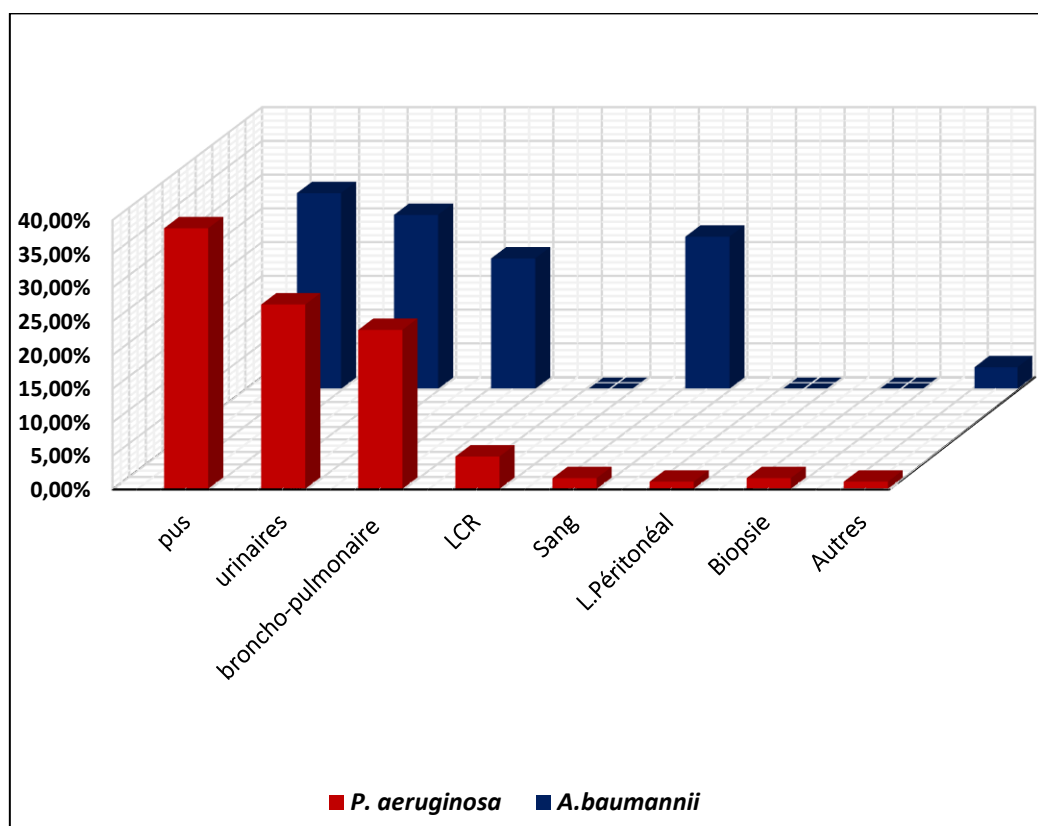
L'espèce *A.baumannii* a été isolée à partir des urines dans 25,81% des cas (n= 8), de prélèvements broncho-pulmonaires et du sang dans 19, 35% et 22,58% des cas respectivement (n=6, n=7).

La dernière souche a été isolée au niveau de la cavité buccale (3,23%, n=1) (**tableau 9, figure19**).



**Tableau 9.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon la nature du prélèvement

Nature du Prélèvement	<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>	
	Nombre	%	Nombre	%
<b>Pus</b>	72	38,71%	09	29,03%
<b>Urines + Sondes urinaires</b>	51	27,42%	08	25,81%
<b>Prélèvement broncho-pulmonaire</b>	44	23,66%	06	19,35%
<b>LCR</b>	09	4,83%	00	00%
<b>Sang</b>	03	1,61%	07	22,58%
<b>Liquide Péritonéal</b>	02	1,08%	00	00%
<b>Biopsie de tissu</b>	03	1,61%	00	00%
<b>Autres</b>	02	1,08%	01	3,23%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100%</b>	<b>31</b>	<b>100%</b>



**Figure 19.** Fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon la nature du prélèvement

## 2. Profil de résistance aux antibiotiques

### 2.1. Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines

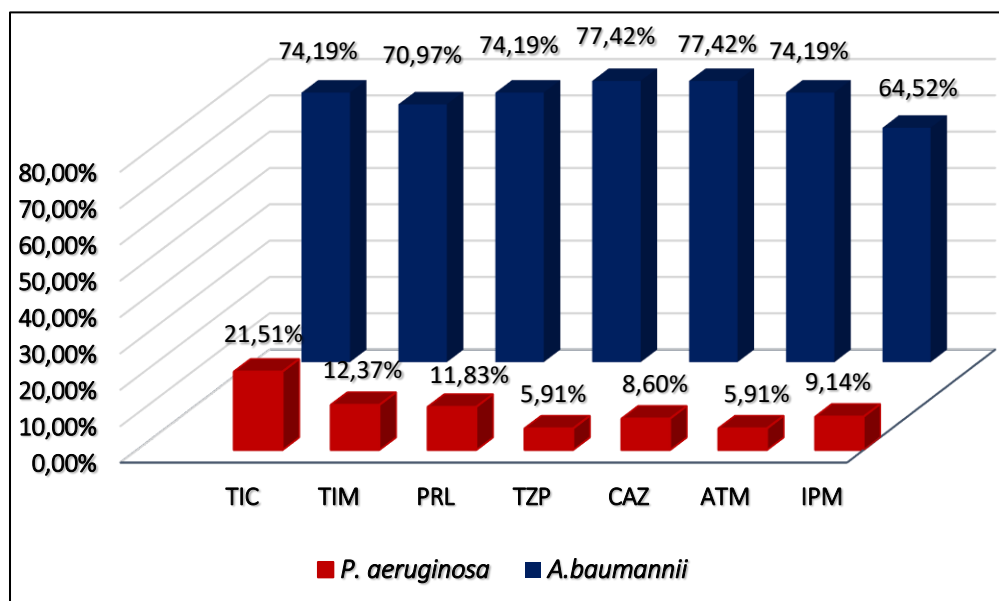
*P. aeruginosa* présentait des taux moyens de résistance, toutes les bêta-lactamines étaient touchées par la résistance. Le taux de résistance le plus élevé était vis-à-vis de la Titracilline (21,51% (40 souches) suivi par l'association Ticarcilline-acide Clavulanique avec un taux de résistance égal à 12,37% (23 souches) et la Pipéracilline avec un pourcentage de 11,83% (22 souches). 9,14% des souches étaient résistantes à l'Imipénème (17) ; les taux de résistance à la Céfotaxime, à l'association Pipéracilline-acide Clavulanique et à l'Aztréonam étaient de 8,60% (16 souches) et 5,91% pour les deux derniers antibiotiques respectivement (11 souches chacun).

Les souches d'*A.baumannii* présentent des taux de résistance aux bêta-lactamines plus importants.

Les taux de résistance à l'association Pipéracilline-acide Clavulanique et à la Céfotazidime étaient les plus élevés (77,42%, 23 souches chacun) suivi par la Ticarcilline ; la Pipéracilline et l'Aztréonam avec le même taux de résistance égal à 74,19% (23 souches). 22 souches sont résistantes à l'association Ticarcilline-acide Clavulanique avec un taux de 70,97% et 20 souches sont résistantes à l'Imipénème (64,52%) (**tableau 10, figure20**).

**Tableau 10.** Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

Espèce	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre(%)</b>	<b>Nombre (%)</b>
<b>Ticarcilline</b>	40 (21,51%)	23 (74,19%)
<b>Ticarcilline-ac-Clavulanique</b>	23 (12,37%)	22 (70,97%)
<b>Pipéracilline</b>	22 (11,83%)	23 (74,19%)
<b>Pipéracilline-ac-Clavulanique</b>	11 (5,91%)	24 (77,42%)
<b>Céfotazidime</b>	16 (8,60%)	24 (77,42%)
<b>Aztréonam</b>	11 (5,91%)	23 (74,19%)
<b>Imipénème</b>	17 (9,14%)	20 (64,52%)



**Figure 20.** Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

- ❖ **TIC** : Ticarcilline, **TIM** : Ticarcilline-ac-Clavulanique, **PRL** : Pipéracilline, **TZP** : Pipéracilline-acide Clavulanique, **CAZ** : Céftazidime, **ATM** : Aztréonam, **IPM** : Imipénème.

## 2.2. Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques

Concernant la résistance aux autres antibiotiques, chez *P.aeruginosa*, le taux de résistance le plus important était vis-à-vis du Triméthopri-me-Sulfaméthoxazole (56,54% ; 105 souches) suivi par : la Rifampicine (38,71% ; 72 souches), la Fosfomicine (17,20 ; 32 souches) et la Doxycycline (16,13% ; 30 souches).

Les taux de résistance aux fluoroquinolones et aux aminosides étaient moins élevés : la Ciprofloxacine avec un taux de 5,91% (11 souches), la Lévofloxacine avec un pourcentage de 4,84% (9 souches), la Gentamicine dont le taux de résistance a atteint 4,30% (8 souches), la Nétilmicine et l'Amikacine ayant le même taux de résistance (3,23% ; 6 souches chacun).

Les taux de résistance les plus faibles concernaient la Tobramycine et la Colistine (1,61% ; 3 souches et 0,54% ; 1 seule souche).

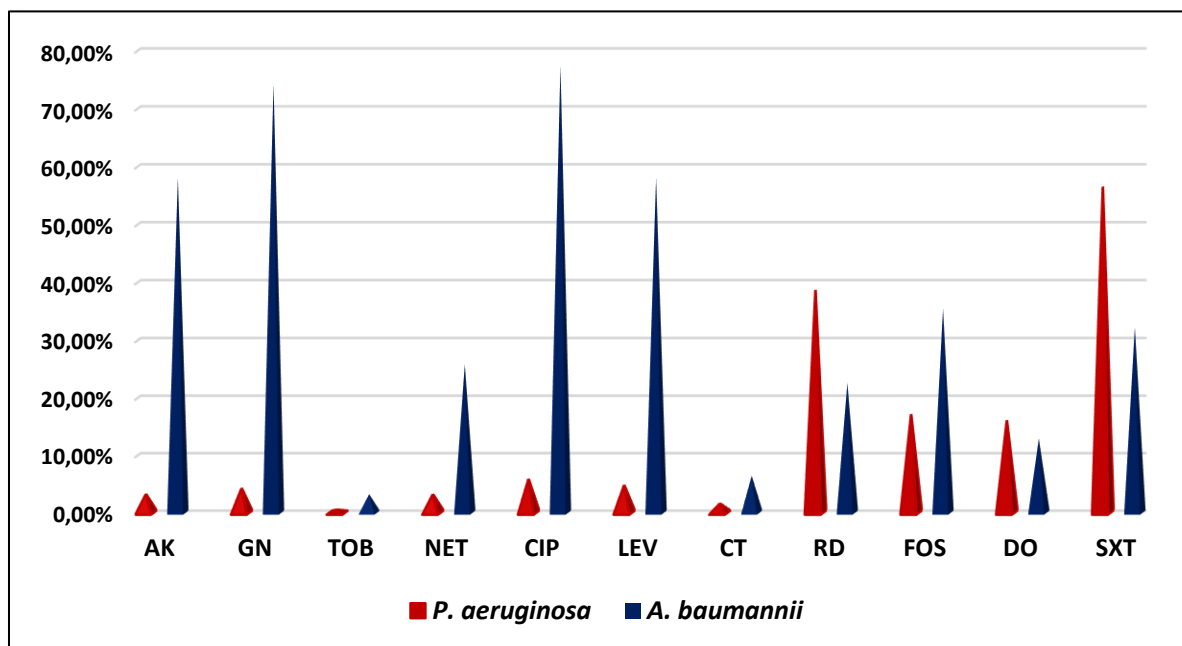
Pour *A.baumannii*, les taux de résistance aux autres antibiotiques étaient nettement plus élevés. Le taux de résistance le plus important était vis-à-vis des fluoroquinolones, la résistance à la Ciprofloxacine représentait un pourcentage de 77,42% (24 souches) suivi par la Gentamicine (74,19% ; 23souches), ensuite l'Amikacine et la Lévofloxacine affichaient le même pourcentage égal à 58,06% (18 souches chacun).

Nos souches d'*A.baumannii* étaient plus sensibles à la Fosfomicine (35,48% ; 11 souches), au Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (32,26% ; 10 souches), à la Nétilmicine (25,81% ; 8 souches), à la Rifampicine (22,58% ; 7 souches) et à Doxycycline (12,90% ; 4 souches).

Les taux de résistance les plus faibles concernaient la Colistine (6,45% ; 2 souches) et la Tobramycine (3,23% ; 1 souche) (**tableau 11, figure21**).

**Tableau11.** Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

Espèce	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
Antibiotique	Nombre (%)	Nombre (%)
Amikacine	06 (3,23%)	18 (58,06%)
Gentamicine	08 (4,30%)	23 (74,19%)
Tobramycine	01 (0,54%)	01 (3,23%)
Nétilmicine	06 (3,23%)	08 (25,81%)
Ciprofloxacine	11 (5,91%)	24 (77,42%)
Lévofloxacine	9 (4,84%)	18 (58,06%)
Colistine	03 (1,61%)	02 (6,45%)
Rifampicine	72 (38,71%)	07 (22,58%)
Fosfomicine	32 (17,20%)	11 (35,48%)
Doxycycline	30 (16,13%)	04 (12,90%)
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	105 (56,54%)	10 (32,26%)



**Figure 21.** Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

- ❖ **AK** : Amikacine, **GN** : Gentamicine, **TOB** : Tobramycine, **NET** : Nétilmicine, **CIP** : Ciprofloxacine, **LEV** : Lévofloxacine, **RD** : Rifampicine, **FOS** : Fosfomicine, **DO** : Doxycycline, **SXT** : Triméthoprime Sulfaméthoxazole.

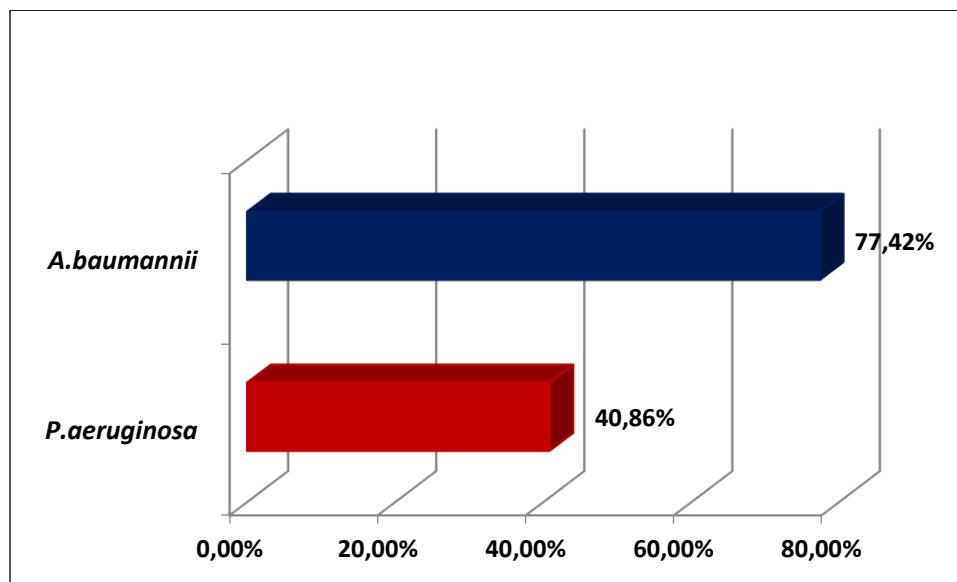
### 3. Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR)

Il existe plusieurs définitions qui expriment la notion de multi-résistance. La définition qui stipule que « Les BMR sont des souches résistantes au moins à trois familles d'antibiotiques. » est maintenue dans notre étude.

A cet effet, parmi nos souches, 76 souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient multi-résistantes avec un pourcentage de 40,86%; Quant aux souches d'*Acinetobacter baumannii*, 24 souches présentaient une multi-résistance (77,42%). Le taux de souches multi-résistantes est plus élevé chez *A.baumannii* (tableau 12, figure22).

**Tableau 12.** Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR) chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
Nombre de souches	Nombre de BMR	% de BMR	Nombre de souches	Nombre de BMR	% de BMR
186	76	40,86%	31	24	77,42%



**Figure 22.** Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR) chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii*

### 3.1. Profil de résistance des BMR

Concernant les souches multi-résistantes de *P.aeruginosa*, 77,63% sont résistants au Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (59 souches) suivi par la Doxycycline (76,32% ; 58 souches) et la Rifampicine (73,68% ; 56 souches).

Les taux de résistance de ces BMR aux autres antibiotiques sont de 39,47% pour la Ticarcilline (30 souches), 22,89% pour la Fosfomicine (25 souches), 22,37% pour l'association Ticarcilline-acide Clavulanique (17 souches), 19,74% pour la Pipéracilline (15 souches) et 17,11% pour la Céfotazidime (13 souches).

Quant à l'Imipénème et La Ciproflaxine, 11 souches sont résistantes avec le même taux de 48% alors que 10 souches sont résistantes à la Lévofloxacine (13,16%), 9 souches à la Gentamicine (11,84%), 8 souches à l'association Pipéracilline-acide Clavulanique et à l'Aztréonam (10,53% chacun), 6 souches à la Nétilmicine (7,89%) et 5 souches à l'Amikacine (6,58%).

Les taux de BMR exprimant une résistance vis-à-vis de la colistine et de la Tobramycine sont de 2,63% et 1,32% respectivement.

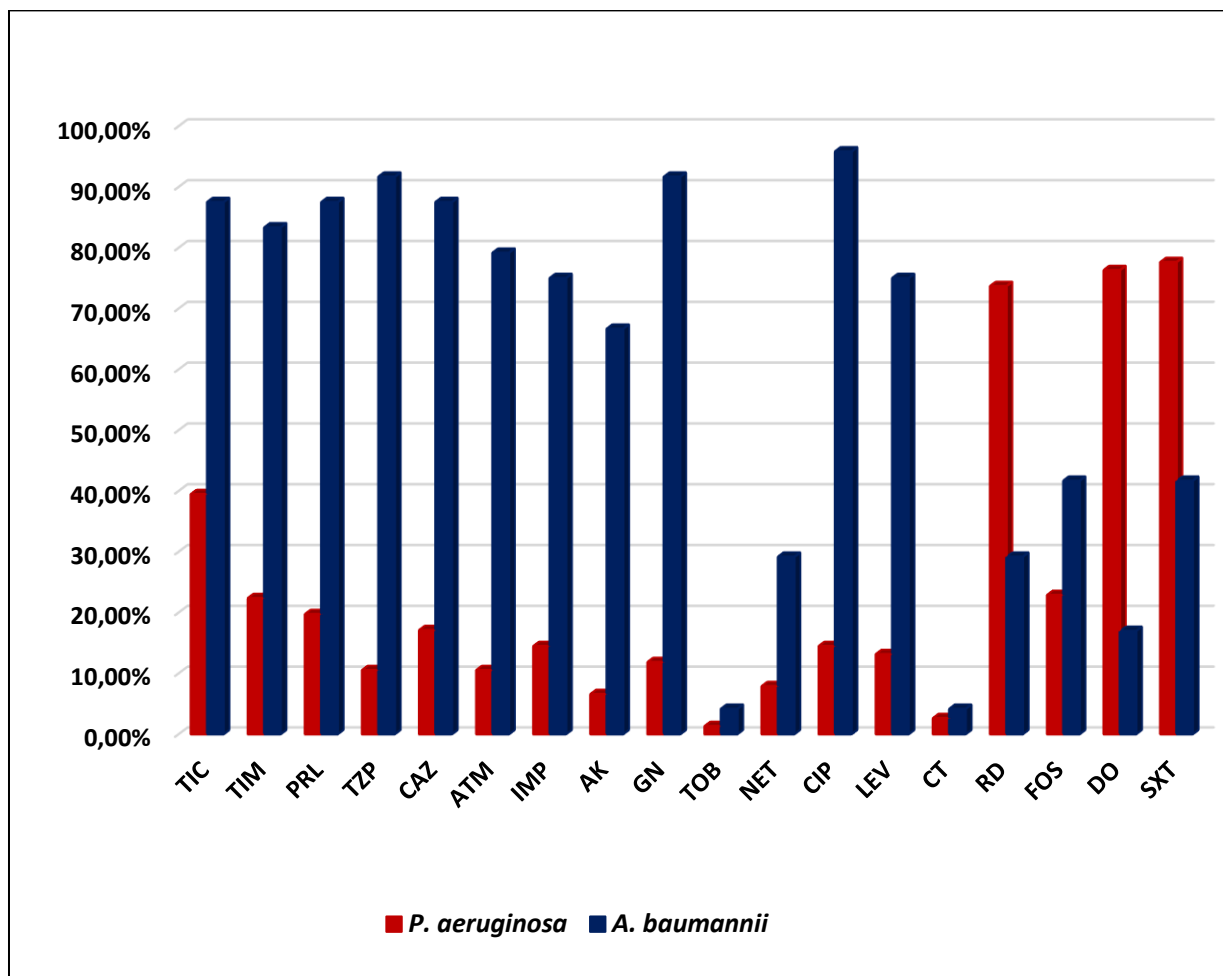
Pour *A.baumannii*, Le profil de résistances des 24 souches BMR a affiché les résultats suivants : Ciproflaxine (95,83% ; 23 souches), Pipéracilline-acide Clavulanique et Gentamicine (91,67% ; 22 souches chacun), Ticarcilline, Pipéracilline et Céfotazidime (87,5%, 21 souches chacun), Ticarcilline-acide Clavulanique (83,33% ; 20 souches), Aztréonam (79,17% ; 19 souches), Imipénème et Lévofloxacine (75% ; 18 souches), Amikacine (66,67% ; 16 souches), Fosfomicine et Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (41,67% ; 10 souches chacun), Nétilmicine et Rifampicine (29,17% ; 7 souches), Doxycycline (16,67% ; 4 souches).

Parmi les deux souches résistantes à la Colistine, une seule est multi-résistante et une seule souche résistante à la Tobramycine est BMR (4,16% ; 1 souche chacun) (**tableau 13, figure 23**).



**Tableau 13.** Profil de résistance des BMR chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

<b>Espèce</b>	<b><i>P. aeruginosa</i></b>	<b><i>A. baumannii</i></b>
<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre (%)</b>	<b>Nombre (%)</b>
<b>Ticarcilline</b>	30 (39,47%)	21 (87,5%)
<b>Ticarcilline-ac-Clavulanique</b>	17 (22,37%)	20 (83,33%)
<b>Pipéracilline</b>	15 (19,74%)	21 (87,5%)
<b>Pipéracillin-ac- Clavulanique</b>	08 (10,53%)	22 (91,67%)
<b>Céftazidime</b>	13 (17,11%)	21 (87,5%)
<b>Aztréonam</b>	08 (10,53%)	19 (79,17%)
<b>Imipénème</b>	11 (14,48%)	18 (75%)
<b>Amikacine</b>	05 (6,58%)	16 (66,67%)
<b>Gentamicine</b>	09 (11,84%)	22 (91,67%)
<b>Tobramycine</b>	01 (1,32%)	01 (4,16%)
<b>Nétilmicine</b>	06 (7,89%)	07 (29,17%)
<b>Ciprofloxacine</b>	11 (14,48%)	23 (95,83%)
<b>Lévofloxacine</b>	10 (13,16%)	18 (75%)
<b>Colistine</b>	02 (2,63%)	01 (4,16%)
<b>Rifampicine</b>	56 (73,68%)	07 (29,17%)
<b>Fosfomicine</b>	25 (22,89%)	10 (41,67%)
<b>Doxycyline</b>	58 (76,32%)	04 (16,67%)
<b>Triméthoprime-Sulfaméthoxazole</b>	59 (77,63%)	10 (41,67%)



**Figure 23.** Profil de résistance des BMR chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

- ❖ **TIC** : Ticarcilline, **TIM** :Ticarcilline-ac-Clavulanique , **PRL** : Pipéracilline , **TZP** : Pipéracilline-acide Clavulanique , **CAZ** : Céftazidime , **ATM** : Aztréonam , **IMP** : Imipénème , **AK** : Amikacine , **GN** :Gentamicine , **TOB** : Tobramycine , **NET** : Nétilmicine , **CIP** : Ciprofloxacine , **LEV** : Lévofloxacine, **RD**: Rifampicine , **FOS** : Fosfomicine ,**DO** : Doxycycline, **SXT** : Triméthoprim Sulfaméthoxazole.

### 3.2. Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) selon le service

Pour *P. aeruginosa*, le taux de multi-résistance le plus élevé a été détecté dans le service de chirurgie générale avec un pourcentage de 23,68% (18 souches), suivi par le service d'urologie et celui de la médecine interne avec le même pourcentage égal à 15,79% (12 souches chacun), les services de médecine ambulatoire et la pédiatrie représentaient un taux de BMR de 9,21% (7 souches chacun).

Des BMR ont aussi été isolées en réanimation (7,89%, 6 souches) en neurologie (5,26%, 4 souches) et en orthopédie (3,95%, 3 souches).

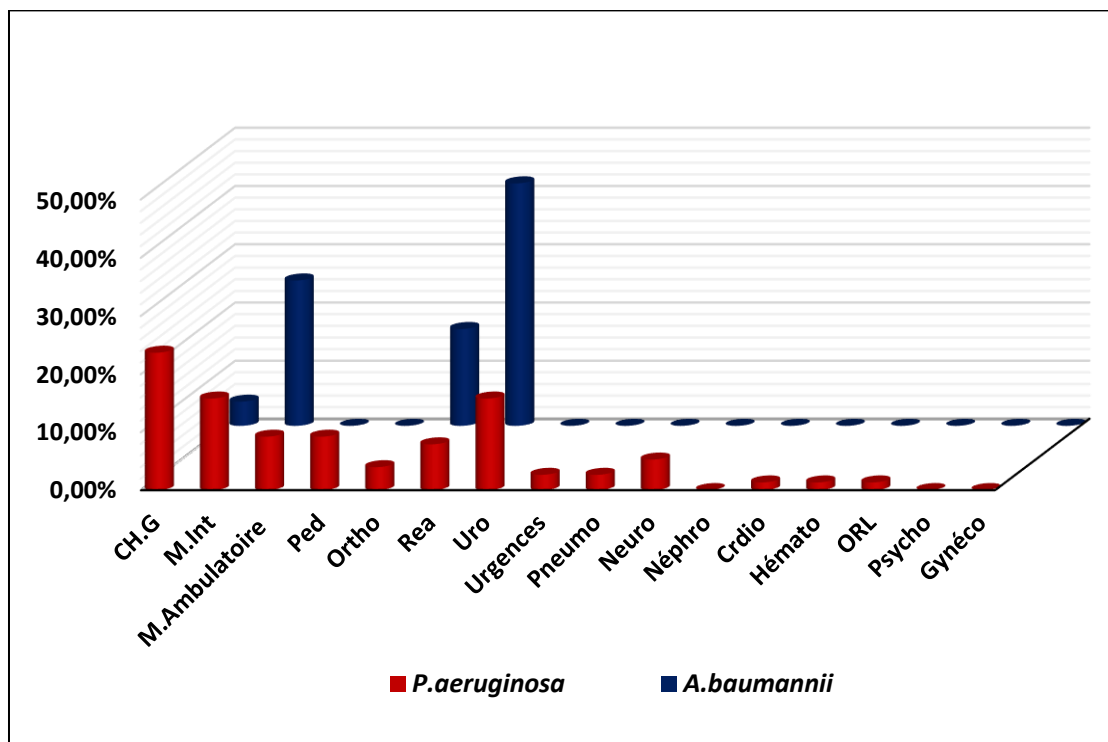
La multi-résistance a été également observée dans les services des urgences et de pneumologie (2,63%, 2 souches chacun) ainsi qu'en cardiologie, hématologie et ORL avec un pourcentage égal à 1,32% (1 souche chacun).

Aucune souche multi-résistante n'a été isolée dans les services suivants : néphrologie, psychiatrie et gynécologie.

Concernant *A.baumannii*, le taux de multi-résistance le plus élevé était observé en réanimation (41,67%, 10 souches) suivi par le service de médecine interne avec la présence de 6 souches multi-résistantes et un pourcentage de 25%, suivi respectivement par l'orthopédie et la cardiologie (16,67%, 4 souches ; 12,5%, 3 souches), et le taux de multi-résistance le plus faible était rencontré au niveau du service de chirurgie générale avec une seule souche (4,17%) (**tableau 14, figure24**).

**Tableau 14.** Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii* selon le service

Service	<i>P.aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>
	Nombre (%)	Nombre (%)
<b>Chirurgie Générale</b>	18 (23,68%)	01 (4,17%)
<b>Médecine Interne</b>	12 (15,79%)	06 (25%)
<b>Médecine Ambulatoire</b>	07 (9,21%)	00 (00%)
<b>Pédiatrie</b>	07 (9,21%)	00 (00%)
<b>Orthopédie</b>	03 (3,95%)	04 (16,67%)
<b>Réanimation</b>	06 (7,89%)	10 (41,67%)
<b>Urologie</b>	12 (15,79%)	00 (00%)
<b>Urgences</b>	02 (2,63%)	00 (00%)
<b>Pneumologie</b>	02 (2,63%)	00 (00%)
<b>Neurologie</b>	04 (5,26%)	00 (00%)
<b>Néphrologie</b>	00 (00%)	00 (00%)
<b>Cardiologie</b>	01 (1,32%)	03 (12,5%)
<b>Hématologie</b>	01 (1,32%)	00 (00%)
<b>ORL</b>	01 (1,32%)	00 (00%)
<b>Psychiatrie</b>	00 (00%)	00 (00%)
<b>Gynécologie</b>	00 (00%)	00 (00%)



**Figure 24.** Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii* selon les services

- ❖ **CH.G** : Chirurgie Générale, **M.int** : Médecine Interne, **M.Amb** : Médecine Ambulatoire, **PED** : Pédiatrie, **Ortho** : Orthopédie, **REA** : Réanimation, **URO** : Urologie, **Urg** : Urgences, **Pneumo** : Pneumologie, **Neuro** : Neurologie, **Néphro** : Néphrologie, **Cardio** : Cardiologie, **Hémato** : Hématologie, **ORL** : Oto-rhino-laryngologie, **Psycho** : Psychiatrie, **Gynéco** : Gynécologie.

### 3. 3. Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) selon la nature du prélèvement

Le taux de multi-résistance le plus élevé a été retrouvé chez les souches de *P. aeruginosa* isolées de pus avec un pourcentage égal à 48,68% et 37 souches multi-résistantes, suivi par les prélèvements urinaires avec 30,26% (23 souches) alors que 11 souches provenaient de prélèvements broncho-pulmonaires (14,47%).

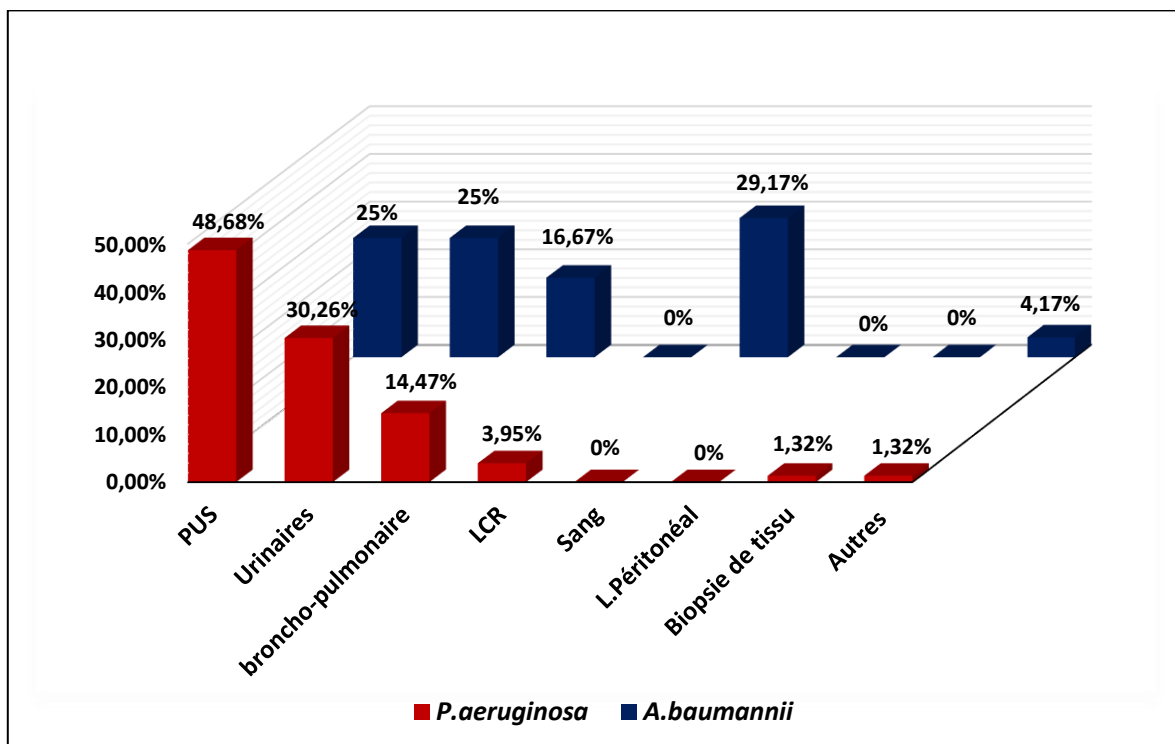
Les taux les plus bas de BMR ont été retrouvés dans le LCR (3,95% ; 3 souches), dans la biopsie de tissu (1,32% ; 1 souche) et dans un autre prélèvement (muqueuse buccale) (1,32% ; 1 souche).

Concernant *A.baumannii*, Le taux de multi-résistance le plus important était rencontré dans le sang (29,17% ; 7 souches) suivi par le pus et les prélèvements urinaires avec le même pourcentage égal à 25% (6 souches).

Un taux de BMR de 16,67% a été retrouvé dans les prélèvements broncho-Pulmonaires (4 souches) et finalement 1 souche BMR émanait d'un prélèvement buccal (4,17%) (**tableau 15, figure 25**).

**Tableau 15.** Fréquence de souches multi-résistantes (BMR) chez *P.aeruginosa* et *A.baumannii* selon la nature du prélèvement

Prélèvement	<i>P.aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>
	Nombre (%)	Nombre (%)
<b>Pus</b>	37 (48,68%)	06 (25%)
<b>Urines + Sondes urinaires</b>	23 (30,26%)	06 (25%)
<b>Prélèvement broncho-pulmonaire</b>	11 (14,47%)	04 (16,67%)
<b>LCR</b>	03 (3,95%)	00 (00%)
<b>Sang</b>	00 (00%)	07 (29,17%)
<b>Liquide Péritonéal</b>	00 (00%)	00 (00%)
<b>Biopsie de tissu</b>	01 (1,32%)	00 (00%)
<b>Autres</b>	01 (1,32%)	01 (4,17%)



**Figure 25.** Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii* selon la nature du prélèvement

#### 4. Fréquence des souches hautement résistantes (BHR) et profil de résistance

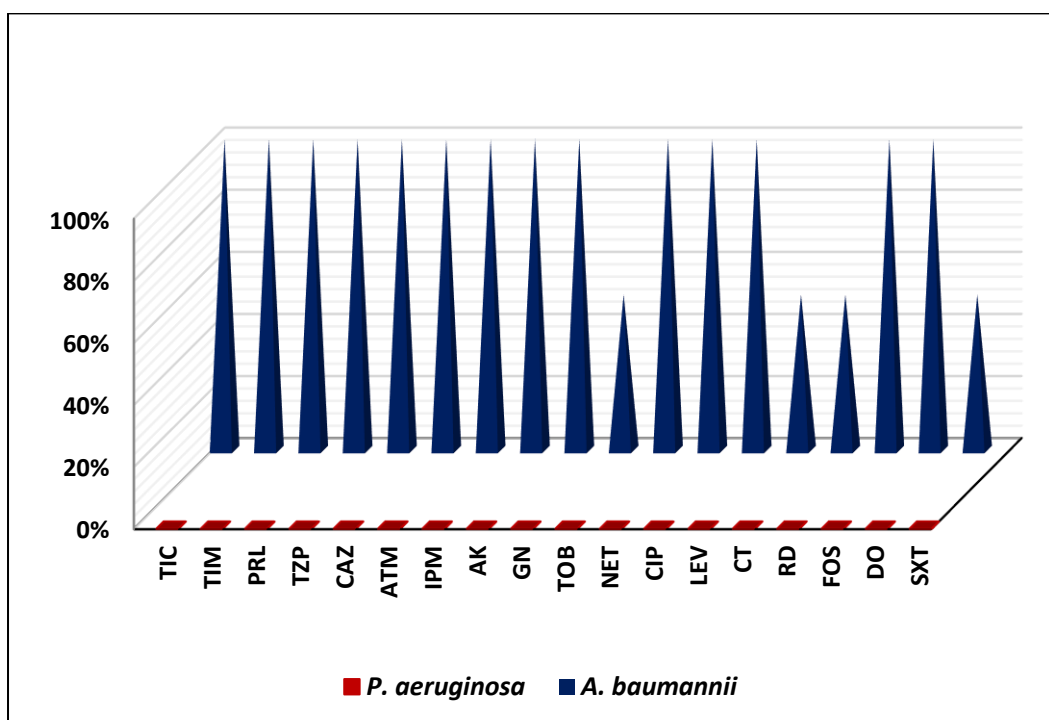
«Les BHR (souches hautement résistantes autrement dites extensively drug-resistant (XDR) sont des souches possédant une résistance acquise à plus d'une molécule appartenant à toutes les familles d'antibiotiques sauf 1 ou 2».

Dans notre étude, il n'y avait aucune souche hautement résistante chez *Pseudomonas aeruginosa*. Alors que chez *Acinetobacter baumannii*, deux BHR ont été isolées (100%) (tableau 16, figure26).



Tableau 16. Profil de résistance des BHR chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii*

Espèce	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
Antibiotique	Nombre (%)	Nombre (%)
Ticarcilline	00 (00%)	02 (100%)
Ticarcilline-ac-Clavulanique	00 (00%)	02 (100%)
Pipéracilline	00 (00%)	02 (100%)
Pipéracillin-ac- Clavulanique	00 (00%)	02 (100%)
Céftazidime	00 (00%)	02 (100%)
Aztréonam	00 (00%)	02 (100%)
Imipénème	00 (00%)	02 (100%)
Amikacine	00 (00%)	02 (100%)
Gentamicine	00 (00%)	02 (100%)
Tobramycine	00 (00%)	01 (50%)
Nétilmicine	00 (00%)	02 (100%)
Ciprofloxacine	00 (00%)	02 (100%)
Lévofloxacine	00 (00%)	02 (100%)
Colistine	00 (00%)	01 (50%)
Rifampicine	00 (00%)	01 (50%)
Fosfomicine	00 (00%)	02 (100%)
Doxycycline	00 (00%)	02 (100%)
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	00 (00%)	01 (50%)



**Figure 26.** Profil de résistance des bactéries hautement résistantes (BHR) chez *P. aeruginosa* et *A.baumannii*

- ❖ **TIC** : Ticarcilline, **TIM** :Ticarcilline-ac-Clavulanique , **PRL** : Pipéracilline , **TZP** : Pipéracilline-acide Clavulanique , **CAZ** : Céftazidime , **ATM** : Aztréonam , **IPM** : Imipénème , **AK** : Amikacine , **GN** :Gentamicine , **TOB** : Tobramycine , **NET** : Nétilmicine , **CIP** : Ciprofloxacine , **LEV** : Lévofloxacine, **RD**: Rifampicine , **FOS** : Fosfomicine ,**DO** : Doxycycline, **SXT** : Triméthoprimé Sulfaméthoxazole.

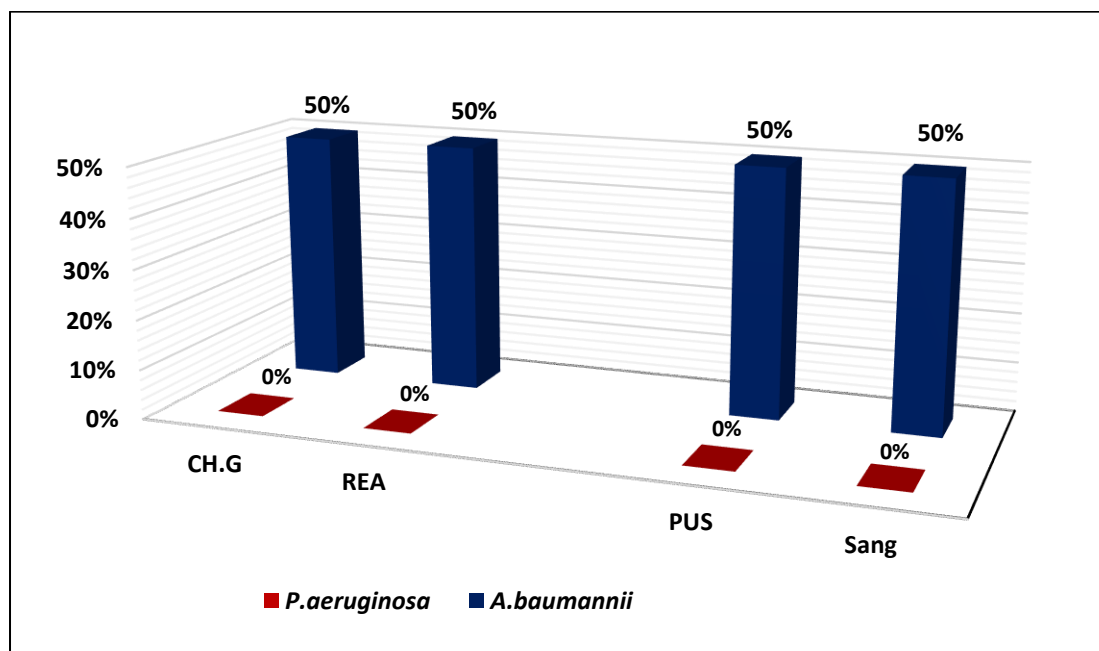
#### 4.1 Fréquence des BHR selon le service et la nature du prélèvement

Deux souches hautement résistantes d'*A.baumannii* ont été retrouvées dans notre étude, une isolée au niveau du service de la chirurgie générale et l'autre au niveau du service de réanimation (50% chacun).

Par rapport à la nature du prélèvement, une souche d'*A.baumannii* a été isolée à partir du sang et l'autre du pus (50%) (tableau 17, figure 27).

**Tableau 17.** Fréquence des BHR selon le service et la nature du prélèvement

Service	<i>P.aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>
	Nombre (%)	Nombre (%)
Chirurgie Générale	00(00%)	01 (50%)
Réanimation	00(00%)	01 (50%)
Prélèvement		
Pus	00(00%)	01 (50%)
Sang	00(00%)	01 (50%)

**Figure 27.** Fréquence des BHR selon le service et la nature du prélèvement

# **DISCUSSION**

---

## Caractéristiques épidémiologiques

### Répartition globale des souches de *P. aeruginosa* et *A.baumannii*

Les bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNnF) sont des bactéries opportunistes, bien que pouvant être isolées d'infections communautaires, elles sont le plus souvent responsables d'infections nosocomiales (INC) [2]. Les deux principales bactéries de ce vaste groupe les plus fréquemment isolées lors d'INC : *P. aeruginosa* et *A. baumannii* [3].

La fréquence d'isolement de ces deux bactéries dépend de l'épidémiologie locale de chaque pays, de chaque hôpital ou même de chaque service et de chaque nature de prélèvement [4].

Notre étude, menée à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine a montré que *P.aeruginosa* représentait un taux élevé (85,71%) par rapport à *A.baumannii* (14,29%).

Nos résultats s'accordaient avec une étude américaine durant la période 1998-2001 où *P. aeruginosa* représentait 25,2% et *A baumannii* 5,8% [73].

Selon une autre étude faite en France en 2006, *P.aeruginosa* représentait un taux plus élevé (24,4%) par rapport à *A.baumannii* (7,9%) [74, 75].

Une troisième étude, cette fois-ci menée dans un pays voisin, à Casablanca en 2004, 25% de souches de *P.aeruginosa* et 14% de souches d'*A.baumannii*) ont été isolées [74, 75].

Dans une étude tunisienne, entre 1995 et 1996, les deux germes ont présenté presque les même taux avec une légère prédominance d'*A.baumannii* [76].

Alors que nos résultats ne s'accordent pas avec ceux d'une autre étude menée à Fès en 2007 où *A.baumannii* présentait une prédominance par rapport à *P. aeruginosa* [77] (**Tableau 18**).

**Tableau 18.** Fréquences d'isolement de *P. aeruginosa* et *A.baumannii* dans le monde

Germe	Etats-Unis (1998- 2001) [73]	France 2006 [74]	Maroc 2004 [75]	Tunisie 1995- 1996[76]	Maroc 2007 [77]
<i>P.aeruginosa</i>	25,2%	24,4%	25%	17%	24%
<i>A.baumannii</i>	5,8%	7,9%	14%	18%	44%

### Répartition des souches de *P. aeruginosa* et *A.baumannii* selon le sexe

En ce qui concerne la répartition des infections à *P. aeruginosa* selon le sexe des patients, nous avons remarqué une prédominance du sexe masculin. Au total, parmi 186 patients, 119 parmi eux ont été du sexe masculin (63,98%). Ces résultats sont en corrélation avec les données d'une étude marocaine en 2015 présentant un taux de prédominance masculine de 80% [78], Mais il faut noter que d'autres études rapportent une équivalence d'isolement chez les deux sexes [79] ou même une prédominance féminine [80].

La même chose pour les infections à *A.baumannii* qui ont été fréquentes aussi chez la population masculine dans 64,52% des cas. Cette prédominance a été apportée dans plusieurs études nationales, Maghrébines et même internationales [81, 82].

Le sexe n'est pas vraiment un facteur déterminant au cours des infections à *P. aeruginosa* et à *A.baumannii*, des auteurs américains n'ont pas trouvé que le sexe était un facteur de risque, la prédominance masculine peut être expliquée par l'association des autres conditions tels que le tabagisme, l'alcoolisme, le diabète ainsi que d'autres pneumopathies chroniques qui surviennent beaucoup plus chez l'homme [83].

### Répartition des souches de *P. aeruginosa* et *A.baumannii* selon l'âge

Dans notre étude, la fréquence d'isolement la plus élevée est constatée chez les patients ayant la tranche d'âge supérieure ou égale à 60 ans ou les taux ont atteint 26,88% chez *P. aeruginosa* et 38,71% chez *A.baumannii*. Ceci reflète que l'âge avancé est un facteur de risque à ne pas

écarter dans l'acquisition des infections nosocomiales, expliqué par la vulnérabilité des personnes âgées.

En effet, ce sont des sujets présentant une immunodépression non négligeable qui pourrait s'aggraver en cas de pathologies telles que le diabète, les atteints multi-viscérales, ce qui facilite l'entrée des germes.

Nos résultats sont comparables à ce qui a été retrouvé dans une étude tunisienne où la moitié des patients avaient plus de 60 ans [84].

Nos résultats rejoignent également les données rapportées par une cohorte prospective faite dans plusieurs centres hospitaliers en Espagne rapportant une moyenne d'âge de 63 ans [82].

### **Répartition des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* selon le service**

En général, ces deux bactéries sont surtout isolées des services de réanimation et de soins intensifs. En effet, dans notre étude, 41,91% des souches d'*A baumannii* étaient isolées de patients en réanimation. Alors que 16,66% des souches de *P.aeruginosa* étaient isolées au niveau de la chirurgie générale et 13,97% en médecine interne.

Une étude, effectuée en Tunisie, au CHU Bourguiba de Monastir entre 2002 et 2005, rapportait que 33,5% des souches de *P. aeruginosa* étaient isolées à partir des services de réanimation et 24,3% des services de chirurgie [85].

Une autre étude réalisée dans différents hôpitaux de l'Ouest algérien rapportait que *P. aeruginosa* était isolé principalement en réanimation dans 65,9% des cas et en chirurgie générale dans 15,2% des cas [86].

En milieu hospitalier, l'épidémiologie de *P. aeruginosa* est endémo-épidémique, variant selon le type de l'unité concernée. Ce germe infecte surtout les sujets hospitalisés dans les unités des soins intensifs et de chirurgie, services où le risque d'infection est important vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives [87, 88].

La réanimation est toujours le service le plus pourvoyeur d'infections à *A.baumannii* ce qui est

expliqué par la gravité des pathologies sous-jacentes, l'hospitalisation prolongée, le recours à une antibiothérapie à spectre élargi et même l'utilisation de multiples procédures invasives notamment l'intubation, les sondes vésicales et les cathéters centraux [82].

Quant à la disparité entre les taux, elle peut être expliquée par la différence de capacité des services de réanimation et leur proportion par rapport à la capacité globale de l'hôpital.

Lors d'une étude rétrospective faite durant la période du 30 juin 2000 au 30 juin 2001 à Rabat, 147 souches d'*A.baumannii* ont été isolées et plus de 2/3 des isolats (67%) provenaient de la réanimation [89].

Une autre étude réalisée au CHU Ibn Rochd à Casablanca, a permis de constater que parmi 754 isolats d'*A. baumannii*, plus de la moitié (50,53%) ont été isolés dans les services de réanimation [90]. Ces résultats rejoignent ceux obtenus dans notre étude.

En Turquie, en 2006, Une étude effectuée dans six unités de soins intensifs, a rapporté que cette bactérie était la plus fréquemment isolée [91].

### **Répartition des souches de *P.aeruginosa* et *A.baumannii* selon la nature du prélèvement**

Du point de vue de la nature du prélèvement et dans notre série, *les souches de P.aeruginosa* étaient isolées essentiellement dans le pus (38,71%) suivi des prélèvements urinaires (27,42%) des prélèvements broncho-pulmonaires (19,35%), alors que pour *A.baumannii*, cette bactérie a été isolée principalement de pus (29,03%), des prélèvements urinaires (25,81%) comparables à *P.aeruginosa* et différemment suivie par l'hémoculture qui représentait 22,58%.

Nos résultats sont en concordance avec une étude régionale tunisienne effectuée à Monastir et une étude marocaine menée à l'hôpital Cheikh Zaid à Rabat qui rapportaient que *P. aeruginosa* était isolé essentiellement de pus et d'urines, les prélèvements respiratoires occupant la troisième place [85, 92].

D'autres études nationales, américaines et européennes ont montré que les voies aériennes sont les principaux sites d'isolement de cette bactérie [87, 93].

Dans les années 1970, les infections prédominantes à *A.baumannii* étaient post opératoires et



urinaire, actuellement elles sont supplantées par les infections respiratoires et les septicémies [43]. Dans l'étude de prévalence européenne EPIC, *A.baumannii* était le septième agent responsable des infections nosocomiales causant 10% des pneumonies et le taux de mortalité global dû à ces infections était de 34-35% [94].

Les prélèvements bronchiques constituaient le site principal d'isolement des souches d'*A.baumannii* en réanimation selon de nombreux auteurs [95], Notre étude retrouvait une prédominance des prélèvements bronchiques, ce qui peut être expliqué par l'implication majeure de la ventilation artificielle dans les infections broncho-pulmonaires à *A.baumannii* [43]. Ce germe est l'un des agents principaux des septicémies isolées dans 8% des bactériémies nosocomiales [43].

### **Profil de résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii***

#### **Fréquence de la résistance aux bêta-lactamines**

*P. aeruginosa* et *A.baumannii* ont marqué une évolution importante de la résistance aux antibiotiques en raison de leur capacité à prospérer dans le milieu hospitalier et d'acquérir rapidement des mécanismes de résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques notamment les bêta-lactamines à large spectre.

Concernant *P. aeruginosa* et pour les bêta-lactamines, les taux de résistance n'étaient pas très élevés. Les taux de résistance à la Ticarcilline et à l'association Ticarcilline -acide Clavulanique étaient respectivement de 21,51% et de 12,73%, la Pipéracilline 11,83%, l'association Pipéracilline-acide Clavulanique et l'Aztréonam avec le même pourcentage de 5,91%, la Ceftazidime 8,60%, le taux de résistance à l'Imipénème était de 9,14%.

Des résultats similaires ont été retrouvés dans beaucoup d'études sauf concernant l'imipénème.

Nos souches étaient moins résistantes par rapport à celles isolées dans des études nationales et internationales : 35% en Algérie (AARN), en Europe, les résultats sont différents : 42,3% en Bulgarie encore moins en Espagne (14,6%) et en France (15,2%) [96-98].

Concernant les pays avoisinants, les taux de résistance à l'imipénème étaient plus importants : 23% au Maroc [99] et 43,9% en Tunisie[100] .

L'imipénème reste toujours le produit le plus actif sur *P. aeruginosa*, dans une étude française, l'évolution de cette résistance a connu une augmentation passant de 4,8 % en 2001 à 33,58 % actuellement [101]. Certains auteurs ont attribué la résistance de *Pseudomonas* au traitement prolongé par cet antibiotique ; [102] d'autres à une association synergique d'une hyperproduction de céphalosporines chromosomique AmpC, avec un autre mécanisme de résistance, imperméabilité de la membrane externe (perte de porine D2) [103].

Nos souches étaient plus sensibles à la Piperacilline comparativement aux souches isolées entre 2001 et 2006 dans un hôpital universitaire à Sofia en Bulgarie (86,2%) [97].

Nos souches étaient aussi largement plus sensibles par rapport à celles isolées dans un centre hospitalier français entre 2002 et 2006 (23,9% pour Ceftazidime) [104].

Concernant *A.baumannii* le premier fait marquant de nos résultats était le taux de résistance élevé des souches à l'association Piperacilline- Acide Clavulanique et à la Ceftazidime avec le même pourcentage de 77,42%, les trois antibiotiques Ticarcilline, Piperacilline et Aztréonam avec un taux de 74,19%, l'association Ticarcilline -acide Clavulanique et Imipénème dont les taux étaient respectivement de 70,97% et 64,52% .

Des études nationales et internationales récentes ont observé des résultats similaires avec des taux de résistance élevés aux bêta-lactamines, notamment dans le rapport de 2014 du réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques (90%), deux études menées au Maroc, l'une à Casablanca en 2015 (91%), l'autre à Fès de la même année (97%), ainsi que dans une étude Espagnole de 2010 (93,9%) et une étude iranienne réalisée en 2012 [105, 106] [81, 107]

Le rapport publié par l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) en France en 2014 a rapporté des taux de résistances moins importants variant de 17% à 35% [108].

Le principal mécanisme de résistance d'*A.baumannii* aux bêta-lactamines est enzymatique, cette bactérie est naturellement résistante aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> générations ainsi qu'à l'ampicilline par production d'une céphalosporinase souvent associée à une

---

diminution de la perméabilité de la paroi. Les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et l'aztréonam n'ont souvent qu'une faible activité ; 60 à 80% des souches sont également résistantes aux carboxy- et aux uréidopénicillines par production d'une pénicillinase (TEM1, TEM2, CARB5). L'acide clavulanique actif sur les pénicillinases n'est généralement pas suffisant pour restaurer une bonne activité thérapeutique des pénicillines [89]. Le sulbactam est actif par lui-même sur *A.baumannii* mais son association avec les bêtalactamines est peu synergique, le plus souvent de type indifférent. A la production de bêtalactamases s'ajoutent d'autres mécanismes de résistance avec d'une part une diminution de la perméabilité et d'autre part une modification des PLP (protéines de liaison aux pénicillines) [109]. La céftazidime est la céphalosporine la plus active, mais 40 à 80% des souches étaient récemment résistantes à cet antibiotique par production d'une céphalosporinase dérégulée [110, 111] .

#### **Fréquence de la résistance aux autres antibiotiques de *P.aeruginosa* et *A.baumannii***

Concernant *P. aeruginosa*, l'analyse des résultats obtenus nous a permis de constater une sensibilité élevée à la plupart des antibiotiques, comme la tobramycine, la colistine et l'amikacine qui représentent les molécules les plus efficaces : taux de résistance de 0,54% , 1,61% et 3,23% respectivement.

Cependant, notre étude a démontré des taux de résistance importants à certains antibiotiques tels que le Triméthoprim-Sulfaméthoxazole (56,54%) suivi par la Rifampicine 38,71%, la Fosfomicine et la Doxycycline représentant 17,20% et 16,13% respectivement.

Comparativement avec une étude réalisée en Espagne, nos souches ont été plus sensibles à la gentamicine (4,30% contre 54.9%), et à l'amikacine (3,23% contre 5.3%) [112] .

Depuis les années 1980, il y a eu une évolution considérable de la résistance d'*A.baumannii* vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques [109].

Nous menons notre discussion en nous basant sur les aminosides et les fluoroquinolones : les deux familles d'antibiotiques souvent utilisées dans le traitement des infections à *A.baumannii*.

Concernant la résistance aux aminosides et d'après notre étude, les taux de résistance vis-à-

vis de l'amikacine et la gentamicine représentaient 74,19% et 58,06% respectivement, le taux était plus faible concernant la nétilmicine (25,81%).

D'après des données maghrébines, une augmentation de la fréquence de la résistance à cet antibiotique a été observée entre 2006 et 2007 de 64% à 90% [87]

Une autre étude effectuée par Messadi *et al.* dans un hôpital Tunisien, a montré l'augmentation du taux de résistance à l'amikacine de 74% à 97% entre 1992 à 2003 [113].

Des études européennes ont mis en évidence une évolution très brutale concernant la résistance aux aminosides [114, 115]

Par contre une étude marocaine a montré une diminution de la résistance des souches d'*A.baumannii* à l'amikacine passant de 54% en 1994 à 41% en 2001 tandis qu'une étude française a rapporté presque une stabilité de la résistance durant les années 2000 [92, 116]. Ceci pourrait être dû à la diminution de la consommation de cette molécule.

Pour les fluoroquinolones, la ciprofloxacine était moins active présentant un taux de 77,42% dans notre étude.

Une étude marocaine a affiché des taux plus élevés durant les années d'étude (91% en 2006, 95% en 2009 et 100% en 2010 et 2011) [92]. Cependant d'après une étude tunisienne, la résistance aux fluoroquinolones a évolué d'une manière alarmante passant de 43% en 1992 à 97,1% en 2003. Cette évolution a été mise en évidence par des études européennes [115, 117]. Par contre, en France, une baisse significative de la résistance à cet antibiotique de 72% en 1992 à 47% en 2000 a été observée [118].

### **Fréquence globale des souches multi-résistantes (BMR)**

“Les bactéries sont dites multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque, du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutiques “ [119].

Dans notre étude, le taux de multi-résistance chez *A.baumannii* (ABMR) (77,42%) était beaucoup plus élevé que celui observé chez *P. aeruginosa* (PAMR) (40,86%).

Pour *P. aeruginosa*, l'hygiène hospitalière précaire, pourrait expliquer le taux élevé de multi-résistance mais ce taux est élevé aussi bien dans les pays développés que dans les pays en développement.

En Italie, Caselli *et alen* en 2010 rapportaient 33% de *Pseudomonas* multi-résistants [120].

En Turquie, Berber en 2014 rapportait 31% [121] et 27% de souches multi-résistantes sont retrouvées en Corée du Nord [122].

Il faut savoir que la multi-résistance des *Pseudomonas aeruginosa* en plus de leur virulence, risque de compliquer la prise en charge des infections. *P. aeruginosa* a la capacité de produire des biofilms autours des dispositifs biomédicaux, ce qui lui procure également une résistance aux antibiotiques administrés par voie parentérale [123, 124] L'association Ciprofloxacine-Amikacine peut s'avérer utile pour cibler les souches résistantes à l'Imipénème et à la Céfotazidime, et en cas de résistance à toutes les associations antibiotiques possibles, le recours à la Colistine comme traitement se justifie malgré sa néphrotoxicité [123]

Pour *A.baumannii*, nos résultats étaient différents par rapport à ceux rapportés dans différentes études car le taux de multi-résistance était plus élevé.

D'après une étude algérienne à Tlemcen en 2014, 28.6% des souches d'*A.baumannii* étaient Multi-résistantes[125].

Au Maroc, une étude menée à rabat en 2012 a présenté un taux de 26.5%. A Fès dans une autre étude en 2015, 27% des souches présentaient une multi-résistance [81, 105].

D'après des données européennes rapportées dans le rapport annuel de 2014 de l'ONERBA, le taux de multi-résistance était plus faible (6.7%) [126].

Cette différence pourrait être expliquée par l'antériorité des résultats.

*A.baumannii* reste une bactérie redoutable à l'hôpital. Cette multi-résistance aux antibiotiques

retrouvée est d'autant plus préoccupante que la persistance de cette bactérie dans l'environnement est impressionnante et qu'elle se développe préférentiellement chez des malades immunodéprimés et vulnérables. Cette multi-résistance est souvent liée à un seul plasmide qui héberge des gènes de résistance aux aminosides et aux fluoroquinolones.

Cette multi-résistance aux antibiotiques fait de l'infection à *A.baumannii* multi-résistant (ABMR) un véritable problème pour le choix d'une antibiothérapie probabiliste ou documentée, et qui impose le recours à la Colistine malgré ses effets indésirables.

Le réseau de surveillance de la résistance bactérienne tunisien souligne la fréquence d'*A.baumannii* dans les hôpitaux tunisiens et la problématique posée par sa multi-résistance aux antibiotiques dont l'Imipenème et la Colistine [127].

Les données du réseau européen, qui permet de comparer les données françaises à celles des autres pays européens a permis de relever plusieurs émergences régionales ou nationales de BMR résistantes également à la Colistine. La résistance combinée aux fluoroquinolones, aminosides et aux carbapénèmes était égale ou supérieure à 20% dans 12 des 23 pays, ce qui souligne que les options thérapeutiques pour les patients infectés par les *Acinetobacter* sont limitées [108].

### **Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) selon le service**

Nos souches présentaient également en général des fréquences de multi-résistance qui différaient selon les services.

Concernant les souches de *P. aeruginosa* isolées durant notre étude, les taux élevés de multi-résistance ont été détectés dans le service de chirurgie générale (23,68%) suivi par la médecine interne (15,79%) et l'urologie (15,79%). Le service de réanimation n'a abrité que 7,89% de souches multi-résistantes.

En France, l'incidence des *P. aeruginosa* multi-résistants dans les services de réanimation était en hausse constante au cours des deux dernières décennies[128]. En revanche, les souches d'*A.baumannii* isolées durant notre étude ont montré un taux de multi-résistance très élevé dans le service de réanimation (41,67%).

La fréquence de la multi-résistance d'*A.baumannii* est variable selon les hôpitaux et selon les services, cependant elle reste plus élevée dans les services de réanimation et de soins intensifs, car elle est favorisée par la pression de sélection des antibiotiques, notamment, ceux à large spectre [129].

La propagation des ABMR est un problème de santé publique surtout dans les services dits à risque qui demande à réviser l'utilisation accrue et inappropriée des antibiotiques.

Par exemple, dans une étude menée en 2005 dans le service des urgences du CHU de Grenoble [130], les prescriptions d'antibiotiques n'ont été jugées pertinentes (pertinence évaluée sur le seul critère du choix correct de la molécule) que dans 53,1% des cas. Cette différence peut s'expliquer par la différence de service étudié, les médecins réanimateurs étant souvent mieux formés à la prise en charge antibiotique et étant plus confrontés au problème d'écologie bactérienne que les médecins urgentistes. Ainsi, la dissémination de ces BGN multi-résistants ne touche que le système hospitalier et préférentiellement les secteurs de soins intensifs. Les problèmes posés sont surtout individuels, amenant à des difficultés ou même des impasses thérapeutiques chez des patients infectés.

### **Fréquence des souches multi-résistantes (BMR) selon la nature du prélèvement**

La fréquence de la multi-résistance de nos souches ne variaient pas seulement selon les services mais elle est également selon la nature du prélèvement.

Pour les souches de *P. aeruginosa*, notre étude a montré une variation de la fréquence de la multi-résistance selon la nature du prélèvement. Ces souches ont été recueillies principalement de pus (48,68%), de prélèvements urinaires (30,26%) et de prélèvements broncho-pulmonaires (14,47%) représentant respectivement les taux les plus élevés de multi-résistance.

Nos résultats étaient similaires aux résultats trouvés dans autre étude malgache réalisée en 2020 où les PAMR ont été isolés à partir de pus dans 54% des cas, des urines (30%) et des prélèvements broncho-pulmonaires (16%) [131]

Pour *A.baumannii*, nos souches multi-résistantes ont été principalement isolées à partir du sang (29,17%), de pus et de prélèvements urinaires (25% des isolats chacun), et de prélèvements

broncho-pulmonaires (16,67%).

Nos résultats étaient différents par rapport à une étude faite à Yangon, en Myanmar de décembre 2015 à janvier 2018 et qui a reporté le fait que les BMR étaient principalement isolées à partir des plaies et des prélèvements broncho-pulmonaires [132] .

### **Fréquence des souches hautement résistantes (BHR) et profil de résistance**

Les bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergents, ou BHR, sont un problème majeur de santé publique. Leur sensibilité à seulement une ou deux classes d'antibiotiques et donc la difficulté de traitement, pourraient conduire à terme, à une impasse thérapeutique.

Encore émergentes en France, elles évoluent sous forme sporadique ou épidémique limitées, *A.baumannii* et *P. aeruginosa* figurent dans les premiers rangs des bactéries résistantes dans l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour guider la recherche et développer de nouveaux antibiotiques.

D'après nos résultats, aucune souche hautement résistante n'a été détectée chez *P. aeruginosa*, pour *A.baumannii*, parmi les 31 isolats, 6,45% étaient des BHR.

Ces résultats étaient différents de ceux retrouvés dans une étude menée en Chine : le taux des souches hautement résistantes était de 31,4% [133].

Ce taux faible des BHR chez *A.baumannii* et leur absence totale chez *P. aeruginosa* peut être expliqué par la nature de l'environnement hospitalier et les mesures d'hygiène et de prévention prises dans chaque hôpital.



# **CONCLUSION**

Pendant notre étude, 186 souches de *P. aeruginosa* (85,71%) et 31 souches d'*A. baumannii* (14,29%) ont été isolées. Ces deux germes ont été observés chez l'homme dans 63,98% et 64,52% des cas respectivement, le plus souvent chez l'adulte de plus de 60 ans (26,88% et 38,71%).

La prédominance masculine peut être expliquée par le constat que *P. aeruginosa* et *A.baumannii* sont souvent associés à des conditions sous-jacentes comme le tabagisme, l'alcoolisme, le diabète ainsi que d'autres pneumopathies chroniques. Mais il existe une disparité entre les études qui serait reliée probablement à des biais méthodologiques. Quant à l'âge de plus de 60 ans, ceci pourrait s'expliquer par la diminution des défenses immunitaires et l'existence de comorbidités présentes à cet âge, le risque d'infection nosocomiale augmenterait avec l'âge.

Les souches de *P. aeruginosa* ont été isolées dans différents services avec une légère prédominance au niveau du service de chirurgie générale avec 16,66%. Concernant les souches d'*A.baumannii*, peu de services sont concernés, la prédominance s'était manifestée au niveau du service de réanimation avec 41,93% des isolats. Les patients au niveau des services de réanimation présentaient un risque plus élevé de développer une infection à *P. aeruginosa* et à *A.baumannii*, ce qui est expliqué par la sévérité des pathologies sous-jacentes, l'hospitalisation prolongée, le recours à une antibiothérapie à large spectre et l'utilisation de multiples procédures invasives notamment, l'intubation, la sonde vésicale, les cathéters centraux...etc.

L'étude de la répartition des isolats de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii* selon la nature du prélèvement a révélé la prédominance des souches dans les pus (38,71% et 29,03%). Des disparités ont été rapportées selon les études. En effet, certaines études rapportaient une prédominance des isolats à partir des hémocultures et d'autres à partir des prélèvements de pus. L'infection à *P. aeruginosa* ou à *A.baumannii* est une infection nosocomiale par excellence et normalement les pneumonies sont le premier site infectieux atteint par contamination de l'environnement et du matériel utilisé lors de la ventilation mécanique. Les bactériémies, les infections urinaires et les infections suppurées sont également des sites de prédilection des infections nosocomiales.

Dans notre série, le profil de sensibilité des bactéries a montré des proportions élevées de

résistance aux antibiotiques plus importantes chez *A.baumannii*, surtout pour la ceftazidime (8,60%, 77,42%) et l'imipénème (9,14%, 64,52%), les deux molécules de choix dans le traitement des infections dues à ces deux bactéries.

*P. aeruginosa* et *A. baumannii* deviennent de plus en plus multi-résistants aux antibiotiques, dans notre étude, les taux de BMR ont atteint 40,86% et 77,42% respectivement. Ce constat alarmant est causé par plusieurs facteurs à savoir : l'importance du réservoir hospitalier, l'importance de la contamination après les soins chez les patients infectés ou porteurs, l'évolution souvent par bouffées épidémiques, les mauvaises pratiques d'hygiène et la pression de sélection des antibiotiques.

Ces résultats montrent que la fréquence de ces souches augmente de façon inquiétante dans notre établissement et leur émergence représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1] Husson M, *et al.* *Pseudomonas et burkholderia*, in *Précis de bactériologie clinique*. 2000, Eska Paris: 1259-1283.
- [2] Berthelot P, *et al.* *Épidémiologie des infections nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia et Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*, 2005. **53**(6): 341-348.
- [3] Nordmann P. *Acinetobacter baumannii, the nosocomial pathogen par excellence*. *Pathologie-Biologie*, 2004. **52**(6): 301-303.
- [4] Dabboussi HM and Izard D. *Sensibilité de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques: étude sur quatre ans (1998–2001) au nord du Liban*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2004. **34**(7): 321-324.
- [5] Husson MDI and Hansen HMF. *Pseudomonas et genres apparentés*, in *Manuel de Bactériologie clinique*. 1994, Option Bio, Paris : 1141-1163.
- [6] Lin MF and Lan CY. *Antimicrobial resistance in Acinetobacter baumannii: From bench to bedside*. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*, 2014. **2**(12): 787.
- [7] Sayehmiri F, *et al.* *The prevalence of antibiotic resistance to polymyxins in clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Iran and the world: A systematic review and meta-analysis*. *Shiraz E-Medical Journal*, 2017. **18**(12).
- [8] Sow AG. *Etude du rôle des intégrons dans la multiresistance aux antibiotiques des bactéries enteropathogènes isolées en Afrique Sub-Saharienne*. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France. 2004; 97p.
- [9] Rodriguez-Villalobos H and Struelens MJ. *Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur*. *Réanimation*, 2006. **15**(3): 205-213.
- [10] Denis F, *et al.* *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. 2016: Elsevier Masson.
- [11] Abdouchakour F, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa and Achromobacter sp. clonal selection leads to successive waves of contamination of water in dental care units*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015. **81**(21): 7509-24.
- [12] Magalhães B, *et al.* *Combining standard molecular typing and whole genome sequencing to investigate Pseudomonas aeruginosa epidemiology in intensive care units*. *Frontiers in Public Health*, 2020. **8**: 3.
- [13] Chaker H. *Régulation de l'adaptation de la bactérie Pseudomonas aeruginosa à son hôte: implication des métabolites du tryptophane*. Thèse de doctorat, Université de Grenoble, France. 2012; 272p.
- [14] Hafiane A and Ravaoarino MJ. *Différentes méthodes de typage des souches de Pseudomonas aeruginosa isolées des patients atteints de mucoviscidose*. *Méd et Mal Infect*, 2008. **38**(5): 238-247.

- [15] [http://www\\_dsv.cea.fr/dsv//la-dsv/toute-l-actualiteLen-direct\\_des-labos/une-nouvelle-cible-pour-les-antibiotiques](http://www_dsv.cea.fr/dsv//la-dsv/toute-l-actualiteLen-direct_des-labos/une-nouvelle-cible-pour-les-antibiotiques).
- [16] Palleroni NJ and Bradbury JF. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1993. **43**(3): 606-609.
- [17] Delarras C. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Tec & Doc Lavoisier. 2007 ; 476.
- [18] Stover CK , et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. Nature, 2000. **406**(6799): 959-964.
- [19] Köhler T and Delden CV. *La recherche translationnelle*. Rev Med Suisse, 2009. **5**: 732-4.
- [20] Khalifa ABH, et al. *Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa: mécanismes et modes de régulations*. in *Annales de Biologie Clinique*. 2011. **69** (4) : 393-403.
- [21] Rossau R, et al. *Taxonomy of Moraxellaceae fam. nov, a new bacterial family to accommodate the genera Moraxella, Acinetobacter, and Psychrobacter and related organisms*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1991. **41**(2): 310-319.
- [22] Dortet L, et al. *Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of Acinetobacter ursingii and Acinetobacter schindleri, two frequently misidentified opportunistic pathogens*. Journal of Clinical Microbiology, 2006. **44**(12): 4471-4478.
- [23] Seifert H and Dijkshoorn L. *Overview of the microbial characteristics, taxonomy, and epidemiology of Acinetobacter*, in *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*. 2008, Springer. 19-45.
- [24] Pailhories H. *Réservoirs extra-hospitaliers et non-humains d'Acinetobacter baumannii sur l'île de la Réunion*. Thèse de doctorat, Université d'angers, France. 2016; 160p.
- [25] Fechkeur Y and Thibault M. *Acinetobacter: aspect bactériologique, habitat, pouvoir pathogène et sensibilité aux antibiotiques*. Feuillet de Biologie, 1998. **39**(222): 39-45.
- [26] Joly-Guillou M. *Acinetobacter et infections nosocomiales*. Revue Française des Laboratoires, 2002. **345**: 14.
- [27] Hidri N. *Identification d'Acinetobacter spp. au laboratoire*. Revue Francophone des Laboratoires, 2012. **441**: 37-42.
- [28] [www.case.edu/thinkLbreakingnewsLBacteria.html](http://www.case.edu/thinkLbreakingnewsLBacteria.html).

- [29] Fournier PE, *et al.* *Comparative genomics of multidrug resistance in Acinetobacter baumannii*. PLoS Genetics, 2006. **2**(1):7.
- [30] Joly-Guillou ML. *Clinical impact and pathogenicity of Acinetobacter*. Clinical Microbiology and Infection, 2005. **11**(11): 868-873.
- [31] Simões LCM and Vieira MJ. *Biofilm interactions between distinct bacterial genera isolated from drinking water*. Applied and Environmental Microbiology, 2007. **73**(19): 6192-6200.
- [32] Smith MG, *et al.* *New insights into Acinetobacter baumannii pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis*. Genes & Development, 2007. **21**(5): 601-614.
- [33] Tomaras AP, *et al.* *Attachment to biofilm formation on abiotic surfaces by Acinetobacter baumannii: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system*. Microbiology, 2003. **149**(12): 3473-3484.
- [34] Crosa JH and Walsh CT. *Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002. **66**(2): 223-249.
- [35] Clarke L and Beveridge TJ. *Gram-negative bacteria produce membrane vesicles which are capable of killing other bacteria*. Journal of Bacteriology, 1998. **180**(20): 5478-5483.
- [36] Nauciel C and Vildé JL. *Bactériologie médicale*. 2005: Elsevier Masson.
- [37] Sanchaita MVS and Singh N. *Multidrug resistant acinetobacter*. Journal of Global Infectious Diseases, 2010. **2**(3): 291.
- [38] Chahmout S. *Pneumopathies nosocomiales à Acinetobacter baumannii en réanimation à propos de 155 prélèvements distaux protégés à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat*. Thèse de Doctorat. Université Mohamed V, Maroc. 2011; 106p.
- [39] Delbos V. *Manifestations cliniques et traitement des infections à Acinetobacter baumannii*. Revue Francophone des Laboratoires, 2012. **2012**(441): 59-65.
- [40] Wisplinghoff H, *et al.* *Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study*. Clinical Infectious Diseases, 2004. **39**(3): 309-317.
- [41] Weinstein RA, *et al.* *Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli*. Clinical Infectious Diseases, 2005. **41**(6): 848-854.
- [42] Peleg AY, Seifert H and Paterson DL. *Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen*. Clinical Microbiology Reviews, 2008. **21**(3): 538-582.

- [43] Bergogne-Berezin E and Towner K. *Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features*. Clinical Microbiology Reviews, 1996. **9**(2): 148-165.
- [44] Jehl F, Meunier O and Monteil H. *L'antibiogramme des bacilles à Gram négatif aérobies-stricts opportunistes*. Revue Française des Laboratoires, 1995. **1995**(277): 29-33.
- [45] Mérens A, et al. *Pseudomonas aeruginosa et résistance aux antibiotiques*. Revue Francophone des Laboratoires, 2011. **2011**(435): 49-62.
- [46] Chastre J and Fagon JY. *Ventilator-associated pneumonia*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2002. **165**(7): 867-903.
- [47] Augustin SM. *Prévalence de la trachéobronchite infectieuse canine: étude épidémiologique rétrospective parmi les consultations de 2007 à 2011 à l'école nationale vétérinaire de Toulouse*. Thèse de doctorat, Université Paul-Sabatier, Toulouse, France. 2014; 54p.
- [48] Mesaros N, et al. *Pseudomonas aeruginosa: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium*. Clinical Microbiology and Infection, 2007. **13**(6): 560-578.
- [49] Livermore DM. *beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance*. Clinical Microbiology Reviews, 1995. **8**(4): 557-584.
- [50] Khodursky AB and Cozzarelli NR. *The mechanism of inhibition of topoisomerase IV by quinolone antibacterials*. Journal of Biological Chemistry, 1998. **273**(42): 27668-27677.
- [51] Weldhagen GF, Poirell and Nordmann P. *Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in Pseudomonas aeruginosa: novel developments and clinical impact*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003. **47**(8): 2385-2392.
- [52] Nordmann P and Guibert M. *Extended-spectrum beta-lactamases in Pseudomonas aeruginosa*. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1998. **42**(2): 128-131.
- [53] Dembélé S. *Etude de la résistance aux antibiotiques des souches de Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii isolées en routine à l'INRSP de Bamako*. Thèse de doctorat. Université des Sciences des Techniques et des Technologies, Bamako, Mali. 2021; 89p.
- [54] Pai H, et al. *Carbapenem resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001. **45**(2): 480-484.
- [55] Traoré A. *Sensibilité aux antibiotiques des souches de pseudomonas aeruginosa isolées de 2004 à 2009 au CHU du Point G*. Thèse de doctorat. Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali. 2019; 67p.



- [56] Evans DJ, *et al.* *The rfb locus from Pseudomonas aeruginosa strain PA103 promotes the expression of O antigen by both LPS-rough and LPS-smooth isolates from cystic fibrosis patients.* Molecular Microbiology, 1994. **13**(3): 427-434.
- [57] Héritier C, *et al.* *Characterization of the naturally occurring oxacillinase of Acinetobacter baumannii.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005. **49**(10): 4174-4179.
- [58] Coyne SP Courvalin and Périchon B. *Efflux-mediated antibiotic resistance in Acinetobacter spp.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011. **55**(3): 947-953.
- [59] Poirel L and Nordmann P. *Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology.* Clinical Microbiology and Infection, 2006. **12**(9): 826-836.
- [60] Corvec S, *et al.* *AmpC cephalosporinase hyperproduction in Acinetobacter baumannii clinical strains.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. **52**(4): 629-635.
- [61] Rice LB. *Challenges in identifying new antimicrobial agents effective for treating infections with Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa.* Clinical Infectious Diseases, 2006. **43**(Supplement\_2): S100-S105.
- [62] Doi Y, Murray GL and Peleg AY. *Acinetobacter baumannii: evolution of antimicrobial resistance—treatment options.* in *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2015. 36(1): 85-98 .
- [63] Lefort A and Nicolas-Chanoine MH. *Les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et les céphalosporines de troisième génération en 2012.* Journal des Anti-infectieux, 2012. **14**(2): 51-57.
- [64] Viana G F, *et al.* *ISAbal1/blaOXA-23: A serious obstacle to controlling the spread and treatment of Acinetobacter baumannii strains.* American Journal of Infection Control, 2016. **44**(5): 593-595.
- [65] Gribun A, *et al.* *Molecular and structural characterization of the HMP-AB gene encoding a pore-forming protein from a clinical isolate of Acinetobacter baumannii.* Current Microbiology, 2003. **47**(5): 434-443.
- [66] Fernández-Cuenca F, *et al.* *Relationship between  $\beta$ -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of Acinetobacter baumannii.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. **51**(3): 565-574.
- [67] Masuda N, *et al.* *Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000. **44**(12): 3322-3327.

- [68] Allem R, Boutemine A and Khennouchi NCEH. *Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant*. Memoire de master. Université Larbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi. Algérie, 2020; 50p.
- [69] Connes P, et al. *Opposite effects of in vitro lactate on erythrocyte deformability in athletes and untrained subjects*. Clinical Hemorheology and Microcirculation, 2004. **31**(4): 311-318.
- [70] Ould Brahim El Kory M. *Bacille pyocyannique:identification et sensibilité aux agents antibacteriens*.Thèse de magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie,1998; 115p.
- [71] Delarras C. *Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques: enseignement commun et préparatoire du Génie de l'environnement*. 1998: G. Morin Europe.
- [72] Wayne P. *Clinical and laboratory standards institute. Performance standards For Antimicrobial Susceptibility Testing*, 2011. **31**: 100-121.
- [73] Babcock HM, et al. *Ventilator-associated pneumonia in a multi-hospital system differences in microbiology by location*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2003. **24**(11): 853-858.
- [74] Girault C, Tamion F and Beduneau G. *Évaluation des soins et pneumopathies nosocomiales en réanimation*. Revue des Maladies Respiratoires, 2006. **23**(2): 27-43.
- [75] Aineb I. *Etude épidémiologie des pneumopathies nosocomiales en réanimation (2004-2005)*.Thèse de doctorat.Université Mohamed V. Rabat, Maroc.2006;50p.
- [76] Oubayyou A, et al. *Bacilles Gram négatifs isolées à l'examen des prélèvements pulmonaires en milieu hospitalier à Niamey (Niger): recherche épidémiologique et thérapeutique*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 2017. **11**(6): 2713-2729.
- [77] Bennani B, et al. *Nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: prospective study in intensive care unit of Fez university hospital*. Saudi Journal of Anaesthesia, 2008. **2**(2): 46.
- [78] Bah A, et al. *Pied diabétique en orthopédie: analyse et évaluation de nos résultats*. Médecine et Chirurgie du Pied, 2015. **31**(1): 32-37.
- [79] Déziel E, et al. *Liquid chromatography/mass spectrometry analysis of mixtures of rhamnolipids produced by Pseudomonas aeruginosa strain 57RP grown on mannitol or naphthalene*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1999. **1440**(2-3): 244-252.
- [80] Jensen PO, et al. *Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by Pseudomonas aeruginosa*. Microbiology, 2007. **153**(5): 1329-1338.

- [81] Hassna MK. *Epidémiologie de l'infection à Acinetobacter baumannii au CHU de Marrakech*. Thèse de doctorat. Université de Cadi Ayyad. Marrakech , Maroc ,2016.107p.
- [82] Villar M, et al. *Epidemiologic and clinical impact of Acinetobacter baumannii colonization and infection: a reappraisal*. *Medicine*, 2014. **93**(5).
- [83] Nizard A and Munoz-Perez F. *Alcool, tabac et mortalité en France depuis 1950. Incidence de la consommation d'alcool et de tabac sur la mortalité*. *Population* (french edition), 1993: 975-1014.
- [84] Mansour W, et al. *Clinical and epidemiological characterization of infections due to imipenem resistant Acinetobacter baumannii at the university hospital Sahloul, Tunisia*. in *Annales de Biologie Clinique*. 2007.
- [85] Abdallah HB, et al. *Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de Pseudomonas aeruginosa isolées dans la région de Monastir*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2008. **38**(10): 554-556.
- [86] Thabet L, et al. *Profil épidémiologique et résistance aux antibiotiques des Souches de Pseudomonas aeruginosa isolées au centre de Traumatologie et Grands Brûlés en Tunisie durant trois ans*. *Tunisie Médicale*, 2012. **90**(11): 803-6.
- [87] Elhousni A. *Evolution sur six ans (2006-2011) de la résistance aux antibiotiques d'Acinetobacter baumannii en réanimation de l'hôpital militaire d'instruction mohammed V de Rabat*. Thèse de doctorat. Université Mohamed V Rabat. Maroc, 2011; 74p.
- [88] Van Eldere J. *Multicentre surveillance of Pseudomonas aeruginosa susceptibility patterns in nosocomial infections*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003. **51**(2): 347-352.
- [89] Elouennass M, et al. *Acinetobacter baumannii: étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V, Rabat, Maroc*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2003. **33**(7): 361-364.
- [90] Lahsoune M, et al. *Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'Acinetobacter baumannii dans un CHU marocain*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2007. **37**(12): 828-831.
- [91] Dizbay M, et al. *Colistin and tigecycline susceptibility among multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolated from ventilator-associated pneumonia*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2008. **32**(1): 29-32.
- [92] Dé E, et al. *Membrane proteomes of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii*. *Pathologie Biologie*, 2011. **59**(6): e136-e139.

- [93] Aghrouch M, *et al.* *Prévalence des souches d'Acinetobacter baumannii et de Pseudomonas aeruginosa résistantes à l'imipénème par production de métallo- $\beta$ -lactamases.* Médecine et Maladies Infectieuses, 2006. **36**(7): 386-389.
- [94] Vincent JL, *et al.* *The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe: results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study.* JAMA, 1995. **274**(8): 639-644.
- [95] Appleman MD, *et al.* *In vitro activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant Acinetobacter baumannii strains isolated in an intensive care unit outbreak.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000. **44**(4): 1035-1040.
- [96] Drissi M, *et al.* *Antibiotic susceptibility and mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance among clinical strains of Pseudomonas aeruginosa: first report in Algeria.* Medecine et Maladies Infectieuses, 2008. **38**(4): 187-191.
- [97] Strateva T, *et al.* *Problematic clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from the university hospitals in Sofia, Bulgaria: current status of antimicrobial resistance and prevailing resistance mechanisms.* Journal of Medical Microbiology, 2007. **56**(7): 956-963.
- [98] Ali MME and Abdel-Razik MAA. *Métallo- $\beta$ -lactamase detection in imipenem resistant pseudomonas aeruginosa isolates in infected burned patients.* AAMJ, 2009. **7**(3).
- [99] Berrezzouk M. *Hémoculture: profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques (à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh Zaid à Rabat.* Thèse de doctorat. Université Mohamed V, Rabat, Maroc. 2008; 102p.
- [100] Hammami S, *et al.* *Diversity in VIM-2-encoding class 1 integrons and occasional blaSHV2a carriage in isolates of a persistent, multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa clone from Tunis.* Clinical Microbiology and Infection, 2010. **16**(2): 189-193.
- [101] Mahtar H. *Les pneumopathies nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa étude rétrospective à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed v de rabat (2007-2008).*Thèse de doctorat,Université de Mohamed V,Maroc.2011;76p.
- [102] Miro E, *et al.* *Emergence of different resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa in a patient treated with imipenem.* European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 1995. **14**(8): 731-732.
- [103] Livermore DM and Woodford N. *Carbapenemases: a problem in waiting?* Current Opinion in Microbiology, 2000. **3**(5): 489-495.
- [104] Aissa K. *Profil de la résistance de pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques aux services de réanimation à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de rabat entre 2006 et 2010.* Thèse de doctorat.Université de Mohamed V,Rabat, Maroc.2012; 74p.

- [105] Yahyaoui G. *Epidémiologie de le'Acinetobacter baumannii au CHU de Fès et de Rabat*. Thèse de doctorat, Université Kadi Ayyad, Marrakech, Maroc.2019; 85p .
- [106] Zerouali K. *Epidémiologie d' Acinetobacter baumannii au CHU de Casablanca*.Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.2016; 91p.
- [107] Hojabri Z, et al. *Molecular epidemiology of Acinetobacter baumannii in Iran: endemic and epidemic spread of multiresistant isolates*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014. **69**(9): 2383-2387.
- [108] Carlet J. and Shlemmer B, *Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France: nécessité d'une mobilisation déterminée et durable*. Institut de Veille Sanitaire, 2015. 16p.
- [109] Annie MJ Vessières and Scavizzi M. *Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques*. Maladies Infectieuses, 1996. **8**: 6-10.
- [110] Joly-Guillou M and Bergogne-Berezin E. *Présence d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi chez Acinetobacter baumannii*. La Presse Médicale (1983), 1990. **19**(14): 672-673.
- [111] Livermore DM. *Tigecycline: what is it, and where should it be used?* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2005. **56**(4): 611-614.
- [112] Sevillano E, et al. *Resistance to antibiotics in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa*. Pathologie Biologie, 2006. **54**(8-9): 493-497.
- [113] Messadi A, et al. *Etude comparative de la sensibilité aux antibiotiques des principales bactéries isolées dans un service de réanimation des brûlés durant deux périodes: 1992-1995 et 2000-2003*. Brûlures, 2005. **6**(1): 30-34.
- [114] Falagas M, et al. *Trends in antimicrobial resistance of Acinetobacter baumannii clinical isolates from hospitalised patients in Greece and treatment implications*. Clinical Microbiology and Infection, 2007. **13**(8): 816-819.
- [115] Protonotariou E, et al. *R2132 Epidemiology of evolution and antibiotic resistance profile of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa in a Greek tertiary care hospital*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2007(29): S617.
- [116] Bertrand X. *Evolution de la résistance chez les bacilles à Gram négatif non fermentant*. Réseau ONERBA France, 2008.
- [117] Données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne (ONERBA).. *Résistance bactérienne aux antibiotiques*. Méd et Mal Infect, 2005. **35**(3): 155-169.
- [118] Trystram D, et al. *Évolution de la sensibilité aux quinolones et aux fluoroquinolones des bacilles à Gram négatif aérobies isolés dans un hôpital universitaire (1992–2000)*. Pathologie Biologie, 2002. **50**(1): 30-37.

- [119] Bourdillon F and Martin D. *Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France: nécessité d'une mobilisation déterminée et durable*. Disponiblesur:[https://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/bc1388c9d55292253ae0889fad2a54e9.pdf](https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/bc1388c9d55292253ae0889fad2a54e9.pdf), 2014.
- [120] Caselli D, *et al.* *Multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa infection in children undergoing chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation*. *Haematologica*, 2010. **95**(9): 1612.
- [121] Berber I, *et al.* *Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2016. **20**(2): 224-225.
- [122] Lee K, *et al.* *Further increases in carbapenem-, amikacin-, and fluoroquinolone-resistant isolates of Acinetobacter spp. and P. aeruginosa in Korea: KONSAR study 2009*. *Yonsei Medical Journal*, 2011. **52**(5): 793-802.
- [123] Chinbo M, *et al.* *Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats de Pseudomonas aeruginosa dans un hôpital pédiatrique marocain: implications thérapeutiques*. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 2014. **11**(2): 283-90.
- [124] Lebeaux D and Ghigo JM. *Infections associées aux biofilms-Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale?* *Médecine/Sciences*, 2012. **28**(8-9): 727-739.
- [125] Boudia M. *Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Acinetobacter baumannii*. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie. 2014. 106p.
- [126] Boufars A, *et al.* *Surveillance des bactéries multirésistantes à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat (Maroc), 2011–2012*. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 2014. **62**: S160-S161.
- [127] Frigui S, *et al.* *Bactériémies Nosocomiales: Épidémiologie Clinique Et Bactériologique Chez Les Brûlés*. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 2021. **34**(1): 10.
- [128] Obritsch MD, *et al.* *National surveillance of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004. **48**(12): 4606-4610.
- [129] Kalai S, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa: Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques (1999-2000)*. *Tunisie Médicale*, 2004. **82**(12): 1070-1074.
- [130] Gennai S, *et al.* *Évaluation de la qualité des prescriptions antibiotiques dans le service d'accueil des urgences d'un centre hospitalier général: analyse prospective de 211 prescriptions*. *La Presse Médicale*, 2008. **37**(1): 6-13.

- [131] Rakotomalala R, *et al.* *Emergence de Pseudomonas aeruginosa vues au Laboratoire d'un CHU à Mahajanga, Madagascar.* International Journal of Progressive Sciences and Technologies, 2020. **18**(2): 22-26.
- [132] Tada T, *et al.* *Molecular epidemiology of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates from hospitals in Myanmar.* Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2020. **22**: 122-125.
- [133] Al-Shamiri MM, *et al.* *Phenotypic and genotypic characteristics of Acinetobacter baumannii enrolled in the relationship among antibiotic resistance, biofilm formation and motility.* Microbial Pathogenesis, 2021. **155**: 104922.

# **ANNEXES**



## Annexe 1

### Fiche de renseignements

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
 MINISTERE DE LA DEFENSE NATIONALE  
 8<sup>e</sup> REGION MILITAIRE  
 HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE BENBAATOUCHE ABDELALI  
 DE CONSTANTINE  
 LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE ET DE PARASITOLOGIE  
 Poste : 69-661

**Fiche de renseignements des prélèvements pour examens bactériologiques**

A fin de porter un diagnostic fiable, veuillez SVP reporter ci-joint les renseignements suivants :


**- Identification du patient :**  
 N° Dossier : 16938-2021      N° Admission : 09061-21      Age : 57 ans  
 Nom : MEZIANI      Prénom : KELTOUM  
 Sexe : F      Service : CHIRURGIE GENERALE

**- Les renseignements cliniques et paracliniques :**  
 Présence de fièvre : Non  Peralante  Intermittente  Sudoroalgique ou au long court   
 Frissons  Diabète  Présence de sonde urinaire  Grossesse  Corticothérapie  Traitement immunosuppresseur   
 Processus tumoral avec traitement en cours  Amaigrissement  Sueurs nocturnes  Malade en Postopératoire   
 Malade hospitalisé :  Depuis quand (en jours) ? 06/06/2021 Jours  
 Autres signes cliniques   
 Si oui, **sepsis pariétal**

Antibiothérapie : Non  En cours  Arrêtée depuis moins de 72 heures  Quel Antibiotique(s) ? cefacet /flagyl  
 Présence de prothèse :  Site \_\_\_\_\_  
 Taux de la CRP : Non demandé  CRP (<) ou (=) 6  CRP > 6   
 Taux des Globules blancs : Non demandé  Valeur référencée normale  (>) ou (=) 12000/mm<sup>3</sup>   
 Diagnostic suspecté : **sepsis pariétal/infection urinaire**  
 Résultats microbiologiques de Prélèvement(s) antérieur(s) envoyé(s) au labo de Microbiologie :   
 Si oui, SVP indiquez : - Prélèvement N°1 : N° de résultat bactériologique **sepsis pariétal**  
 - Prélèvement N°2 : N° de résultat bactériologique \_\_\_\_\_

**- Type du prélèvement :**  
 LCS  Urine  Sonde urinaire  Pus  L. ponction de kyste  Hémo-culture  Ponction Abscès  L. ascite   
 L. pleural  L. péritonéal  PDP  KT central  KT périphérique  L. dialyse péritonéale  Gorge  Crachats   
 L. péricardique  Prélèvement vaginal  Prélèvement vulvaire  Sperme  Selles  L. articulaire  Aspiration endotrachéale   
 Aspiration bronchique non protégée  L. phlegmon amygdalien  Biopsie de tissu  Biopsie osseuse  L. gastrique   
 Sécrétions rhinopharyngées  Tubage gastrique  Autres \_\_\_\_\_  
 - Site du prélèvement (pour Pus - Abscès - Biopsie) \_\_\_\_\_  
 - Autre(s) type(s) de prélèvement (si ne figurant pas ci-dessus) **sepsis pariétal**  
 - Recherche spécifique supplémentaires : BK  Brucelle  Chlamydia  Mycoplasme  Autres \_\_\_\_\_

HMRUC le : 16/06/2021

**Signature et griffe du médecin traitant**  
 Dr. SAHBI E.   
 Chirurgien Général

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

**Annexe 2**  
**Tableau de lecture de la galerie API 20 NE**

Tests	Composants actifs	Réaction/enzyme	Résultats	
			Négatif	Positif
NO <sub>3</sub>	Potassium nitrate	réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 +NIT 2/ 5 min	
			Incolore	Rose-rouge
		réduction des nitrates en azote	Zn/ 5min	
			Rose	incolore
TRP	L-tryptophane	formation d'indole	Kovacs/ immédiat	
			Incolore Vert pâle/ jaune	Rose
<u>GLU</u>	D-glucose	fermentation	Bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	arginine Dihydrolase	Jaune	Orange/ rose/ rouge
<u>URE</u>	Urée	Uréase	Jaune	Orange/ rose/ rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse (β-glucosidase)	Jaune	Gris/ marron/ noir
	Citrate de fer			
GEL	Gélatine (origine bovine)	Hydrolyse de la gélatine (protéase)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	jaune
GLU	D-glucose	assimilation	transparente	Trouble
ARA	L-arabinose	assimilation	transparente	Trouble
MNE	D-mannose	assimilation	transparente	Trouble
MAN	D-mannitol	assimilation	transparente	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	Assimilation	transparente	Trouble
MAL	D-maltose	assimilation	transparente	Trouble
GNT	Potassium gluconate	assimilation	transparente	Trouble
CAP	Acide caprique	assimilation	transparente	Trouble
ADI	Acide adipique	assimilation	transparente	Trouble
MLT	Acide malique	assimilation	transparente	Trouble
CIT	Trisodium citrate	assimilation	transparente	Trouble
PAC	Acide phénilacétique	assimilation	transparente	Trouble



## ANNEXES

29	F	31	Médecine Interne	Pus	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
30	F	56	Chirurgie Générale	Pus	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
31	M	40	Urologie	Pus	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
32	F	37	Réanimation	Pus	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
33	M	18	Pneumologie	Broncho-pulmonaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
34	F	18	Orthopédie	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
35	M	13	Pédiatrie	Broncho-pulmonaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
36	M	27	Orthopédie	Pus	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
37	M	61	Chirurgie Générale	Urine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
38	M	17	Chirurgie Générale	Pus	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
39	M	38	Cardiologie	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
40	F	47	ORL	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
41	M	41	Médecine Ambulatoire	Biopsie De Tissu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
42	M	7	Pédiatrie	Broncho-pulmonaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
43	M	67	Médecine Interne	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
44	M	4	Neurologie	LCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
45	F	51	Chirurgie Générale	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
46	F	57	Réanimation	Broncho-pulmonaire	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
47	M	4	Neurologie	LCR	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
48	F	71	Chirurgie Générale	Urine	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
49	F	56	Chirurgie Générale	Sonde Urinaire	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
50	M	79	Médecine Ambulatoire	Pus	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
51	M	47	Chirurgie Générale	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
52	F	31	Médecine Interne	Pus	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
53	M	18	Pneumologie	Broncho-pulmonaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
54	M	40	Urologie	Pus	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
55	F	37	Réanimation	Pus	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
56	F	35	Urgence	Urine	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
57	F	50	Chirurgie Générale	Pus	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
58	F	1	Pédiatrie	Broncho-pulmonaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
59	M	57	Médecine Interne	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+

## ANNEXES

60	M	7	Pédiatrie	Broncho-pulmonaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
61	F	52	Médecine Ambulatoire	Urine	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
62	F	52	Médecine Ambulatoire	Urine	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
63	F	31	Médecine Interne	Pus	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
64	F	52	Urologie	Urine	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
65	M	8	Chirurgie Générale	Urine	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
66	M	75	Urologie	Urine	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
67	M	10	Pédiatrie	Urine	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
68	M	75	Urologie	Pus	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
69	F	52	Urologie	Pus	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
70	F	24	Chirurgie Générale	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
71	M	79	Médecine Interne	Pus	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
72	M	47	Chirurgie Générale	Urine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
73	F	31	Médecine Interne	Pus	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
74	F	56	Chirurgie Générale	Pus	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
75	M	61	Urologie	Pus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
76	M	61	Urologie	Urine	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-

**ANNEXES**

**Annexe 4. Profil de résistance aux antibiotiques des BMR chez *Acinetobacter baumannii* (24 souches).**

1	F	58	Sang	Chirurgie Générale	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	
2	F	42	Sonde Urinaire	Réanimation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	
3	M	36	Pus	Médecine Interne	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-		
4	M	6	Pus	Médecine Interne	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
5	M	60	Urine	Cardiologie	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	
6	M	44	Sang	Réanimation	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
7	M	60	Urine	Orthopédie	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	
8	M	69	Pus	Orthopédie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	
9	M	24	Autre	Réanimation	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	
10	M	9	Pus	Réanimation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
11	M	85	Broncho-pulmonaire	Réanimation	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
12	M	17	Pus	Médecine Interne	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
13	F	39	Pus	Orthopédie	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	
14	M	67	Broncho-pulmonaire	Réanimation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	
15	M	16	Sonde Urinaire	Cardiologie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	
16	M	69	Urine	Orthopédie	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	
17	M	28	Sang	Réanimation	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
18	F	62	Sang	Cardiologie	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
19	M	40	Broncho Pulmonaire	Réanimation	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	
20	M	8	Sang	Réanimation	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	
21	M	21	Broncho Pulmonaire	Réanimation	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	
22	F	31	Urine	Médecine Interne	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
23	F	31	Sang	Médecine Interne	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	
24	F	64	Sang	Médecine Interne	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+

# Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Filière : Microbiologie**

**Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes**

## *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* : Caractéristiques épidémiologiques et résistance aux antibiotiques

Résumé :

*P.aeruginosa* et *A.baumannii* sont des bacilles à Gram négatif non fermentants (BGnF). Bactéries pathogènes opportunistes, elles sont responsables d'infections nosocomiales remarquables par leur sévérité. L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique. Le but de ce travail était de déterminer les caractéristiques épidémiologiques des souches de *P. aeruginosa* et d'*A.baumannii* ainsi que d'évaluer le profil de résistance aux différentes familles d'antibiotiques. L'étude était réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, portant sur 217 souches isolées dans divers prélèvements et conduite durant les deux années 2019-2020 (étude prospective) et du 13 juin au 13 juillet 2021 (étude rétrospective). Les résultats obtenus ont montré que *P. aeruginosa* et *A.baumannii* représentaient respectivement 85,71% et 14,29% des cas et une prédominance masculine a été remarquée chez les deux germes (63,98%, 64,52%) avec une fréquence élevée chez les patients âgés de plus de 60 ans (26,88% et 38,71%). La plupart des isolats provenaient de pus (36,48% et 30,56%) et *P. aeruginosa* a été isolé dans différents services alors le service de réanimation était la principale source d'isolement de *A.baumannii* (41,93%). Dans notre série, le profil de sensibilité des bactéries a montré des proportions élevées de résistance à toutes les familles d'antibiotiques, plus importantes chez *A.baumannii*, surtout pour la ceftazidime (8,60%, 77,42%) et l'imipénème (9,14%, 64,52%), les taux de bactéries multi-résistantes (BMR) ont atteint 40,86% et 77,42% respectivement. La prévalence de la résistance à la colistine, molécule prescrite comme traitement de dernier recours reste actuellement basse (1,61% et 6,45%). Nos résultats ont montré que la fréquence de la résistance aux antibiotiques a augmenté de façon inquiétante dans notre établissement. L'émergence des BMR représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène. L'optimisation de l'utilisation clinique de la colistine a une importance croissante et constitue la priorité actuelle.

**Mot clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - *Acinetobacter baumannii*- Résistance aux antibiotiques – Epidémiologie – Multi-résistance.

**Membre du jury :**

**Présidente du jury :** Mme Abdelaziz Ouided (MBC) UFM Constantine 1

**Rapporteur :** Mme Hecini-Hannachi Abla (MCA) U Salah Bounider Constantine 3

**Examinatrice :** Mme Boultifat Linda (MBC) UFM Constantine 1

**Présentée par :** Amouchas Nesrine  
Bensalmi Hdjer  
Boufrah Anfel

**Année universitaire : 2020-2021**

