

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SIENTIFIQUE

CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED-

NAAMA

INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT SNV



**Mémoire**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en microbiologie**

**Option : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE**

**Thème**

**ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES  
BACILLES A GRAM NEGATIF NON FERMENTANTS ISOLEES  
AUX NIVEAU DE SERVICE DE MATERNITE  
- HOPITAL DE MECHRIA -**

**Présenté par :**

**Soutenu le : 28 /09/2020**

M<sup>elle</sup> KADRI Hanane

M<sup>elle</sup> KEZDIR Houda

**Devant le jury composé de :**

- |  |         |       |
|--|---------|-------|
| ❖ <b>Présidente de jury:</b> Mme. DEROUICHE SALIMA | (M.A.B) | C.U.N |
| ❖ <b>Encadreur:</b> Dr. LAGHA NOURIA               | (M.C.A) | C.U.N |
| ❖ <b>Examinatrice :</b> Mme. BENGHALEM IBTISSEM    | (M.A.B) | C.U.N |

**ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2019/ 2020**



# *Remerciements*





## *Remerciements*

Tout d'abord, Louange à Allah, le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

### **A notre maître l'encadreur de mémoire Mme. LAGHA Nouria**

Docteur en Microbiologie

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez accordée en nous proposant ce travail. Vous avez su toujours trouver le temps nécessaire pour suivre l'évolution de ce travail et étiez là par vos conseils pour apporter votre aide lorsque que besoin survient. Votre rigueur dans le travail fut très enrichissante pour nous et c'est avec un réel plaisir que nous vous exprimons toute notre gratitude.

### **À la présidente de jury Mme. DEROUICHE Salima**

Nous considérons comme un grand honneur que vous avez accepté de participer à ce jury de mémoire et de le présider malgré vos nombreuses obligations. Veuillez trouver ici, l'expression de notre profond respect.





**A l'examinatrice de mémoire Mme. BENGHALEM Ibtissem**

Nous exprimons nos vifs remerciements pour l'intérêt que vous avez porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par vos propositions.

**A la directrice de l'hôpital de Méchéria Mme DHEYAB Khadidja**

Votre contribution, nous a été une aide précieuse dans la réalisation de ce travail. Nous vous prions d'accepter notre profonde reconnaissance et notre considération.

**A tous les personnels de service de maternité**

**En particulier la cheffe de service de maternité Mme BOUNOUA Rabiaa**

Nous vous remercions pour nous avoir facilité l'accès au service et pour leurs générosités et leurs cœurs ouverts durant notre travail.

**Enfin**

Nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.





# *Dédicaces*





## *Dédicace*



Toutes les lettres ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect. C'est tout simplement que je dédie cette mémoire ...

### **À mes chers parents**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

### **À Mon unique frère Yahia et ma jolie sœur Ikram**

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

### **À mes amis de toujours : Amina, Fatiha, Khadidja, Meriem, Oum kaltoum, Souhila, et ma binôme Houda**

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

### **À toute ma famille Kadri et Bennour**

**Et** à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.



*Hanane*



## *Dédicace*

### **A mes chers parents,**

A mes parents, Aucun dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour plus les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Acceptez ce travail en guise de reconnaissance.

### **A ma sœur Fatiha et mes frères Younce et Mohammed,**

Vous avez toujours été à mes petits soins et m'avez toujours encouragé. Que la grâce du Seigneur soit toujours sur vous et nous aide à être toujours présents les uns pour les autres.

Recevez toute ma gratitude à travers ce travail.

### **A l'ensemble de mes collègues et ami(e)s,**

Quelques mots ne suffisent pas pour décrire ce que nous avons vécu, j'userai des pages pour exprimer mon expérience avec chacun de vous. Ce fut une très belle expérience. Je vous souhaite la réussite et le succès dans tout ce que vous entreprendrez.

Sans oublier mon binôme Hanane pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

### **Tous ceux et celles qui,**

De près ou de loin m'ont soutenu d'une manière ou d'une autre : famille, ami(e)s, connaissances, par leurs prières, leurs conseils, la finalisation de ce travail ou autre. Ne pouvant pas tous vous citer, je demande à travers ce travail la bénédiction du tout puissant dans votre vie.



*Houda*



# *Résumés*



## Résumé

La résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants est un majeur problème de la santé publique. *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont des pathogènes opportunistes à Gram négatif non fermentants, responsables essentiellement d'infection nosocomiales. Notre étude a été menée essentiellement sur l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants à partir de plusieurs prélèvements, au niveau de service maternité -hôpital de Méchéria-

L'identification des souches a été effectuée selon les techniques de coloration de Gram, test oxydase, catalase et la Galerie API 20NE. L'antibiogramme a été réalisé par méthode de diffusion d'antibiotique sur gélose suivi des tests de confirmation de la résistance : test Hodge modifié THM et le test de disque d'IMP-EDTA.

L'application de l'ensemble de tests d'identification nous a permis de rapprocher deux isolats à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* et un isolat à l'espèce *Acinetobacter baumannii* parmi les trois souches isolées.

La plupart des isolats ont été résistants à tous les antibiotiques, y compris les carbapénèmes, mais ils ont resté sensibles à la colistine, dont certains isolats ont été des producteurs de carbapénémases qui se sont révélées être des métallo- $\beta$ -lactamases, d'après les études récentes.

La résistance aux antibiotiques est devenue un sujet prioritaire pour les autorités sanitaires au niveau mondial. L'avenir de la lutte contre les infections bactériennes, et en particulier celles causées par les bacilles à Gram négative non fermentants, dépend essentiellement des principes de bon usage des antibiotiques.

**Mots clés :** Bacille à Gram négative non fermentant, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, résistance aux antibiotiques

## *Abstract*

Antibiotic resistance in non-fermenting Gram-negative bacilli is a major public health problem. *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* are non-fermenting, opportunistic Gram-negative pathogens, mainly responsible for nosocomial infections. Our study was carried out primarily on the study of the sensitivity to antibiotics of non-fermenting Gram-negative bacilli from several samples, at the maternity service -hospital of Méchéria-.

The identification of the strains was carried out according to the techniques of Gram staining, oxydase test, catalase and the API 20NE Gallery. The antibiogram was performed using the antibiotic agar diffusion method followed by confirmatory resistance tests: modified Hodge THM test and IMP-EDTA disc test.

Application of the set of identification tests enabled us to match two isolates with *Pseudomonas aeruginosa* and one isolate with *Acinetobacter baumannii* among the three strains isolated.

Most of the isolates were resistant to all antibiotics, including carbapenems, but they remained susceptible to colistin, some isolates of which were producers of carbapenemases which were revealed to be metallo- $\beta$ -lactamases, according to recent studies.

Antibiotic resistance has become a priority topic for health authorities worldwide. The future of the fight against bacterial infections, and in particular those caused by non-fermenting Gram-negative bacilli, depends crucially on the principles of good antibiotic use.

**Key words:** non-fermenting Gram-negative bacilli, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance

## ملخص

تعتبر مقاومة المضادات الحيوية في العصيات سالبات الجرام غير المخمرة مشكلة صحية عامة كبرى .  
هي من مسببات الأمراض الانتهازية *Acinetobacter baumannii* و *aeruginosa Pseudomonas* سالبة الجرام غير المخمرة ، وهي مسؤولة بشكل أساسي عن عدوى المستشفيات. أجريت دراستنا في المقام الأول على دراسة الحساسية للمضادات الحيوية من العصيات سالبة الجرام غير المخمرة من عدة عينات ، في جناح الولادة - مستشفى المشرية.

تم تحديد السلالات وفقاً لتقنيات تلوين الجرام واختبار oxydase و catalase ومعرض API 20NE تم إجراء antibiogramme باستخدام طريقة نشر أجار المضادات الحيوية متنوعة باختبارات المقاومة التأكيدية: اختبار Hodge THM المعدل واختبار قرص IMP-EDTA.

تطبيق مجموعة اختبارات التعريف مكننا من مطابقة عزلتين مع *Pseudomonas aeruginosa* وعزلة واحدة مع *Acinetobacter baumannii* بين السلالات الثلاثة المعزولة.

كانت معظم العزلات مقاومة لجميع المضادات الحيوية ، بما في ذلك الكاربابينيمات ، لكنها ظلت حساسة للكوليستين ، وبعض عزلاتها كانت منتجة لإنزيمات الكاربابينيمات التي وجد أنها *métallo-β-lactamases* وفقاً لدراسات الحديثة.

أصبحت مقاومة المضادات الحيوية موضوعاً ذا أولوية للسلطات الصحية في جميع أنحاء العالم. يعتمد مستقبل مكافحة الالتهابات البكتيرية، وخاصة تلك التي تسببها العصيات سالبات الجرام غير المخمرة، بشكل حاسم على مبادئ الاستخدام الجيد للمضادات الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** عصيات سالبة الجرام غير مخمرة، *Acinetobacter baumannii* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، مقاومة المضادات الحيوية.



*Liste des  
abréviations*



## *Liste des abréviations*

**A .b** : *Acinetobacter baumannii*

**AN** : Amikacine

**AmpC** : Adénosine monophosphate cyclique

**ATM** : Aztreonam

**Bcc** : Bouillon cœur cerveau

**BGN** : Bactéries à Gram négatif

**BGNnF** : Bacilles à Gram négatif non fermentants

**BLSE** :  $\beta$ -lactamases à spectre étendu

**CAZ** : Ceftazidime

**CIP** : Ciprofloxacine

**GM** : Gentamicine

**GN** : Gélose nutritive

**CS** : Colistine

**CTX** : Cefotaxime

**EDTA** : Ethylene Diamine Tetracetic Acid

**FEP** : Cefepime

**IMP** : Imipenème

**LPS** : Lipopolysaccharides

**MBL**: Métallo- $\beta$ -lactamase

**MDR** : Multidrugrésistant (multirésistant)

**Mex** : Multidrug efflux

**MH** : Miller Hinton

**OMP ou Opr** : Outer Membrane Protein (protéine de membrane externe).

**CarO** : Carbapenem resistance-Associated

**P.a:** *Pseudomonas aeruginosa*

**PLP** : Protéines liant la pénicilline

**RND** : Resistance Nodulation-Division

**TCC:** Ticarcillin/Acide clavulanique

**THM** : Test Hodge modifié

**TIC** : Ticarcilline

**TM** : Tobramycine

**TPZ** : Piperacilline/ Tazobactam

**UFC** : Unité formant colonie



*Liste des  
tableaux*



## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1.</b> Répartition de différents prélèvements .....	24
<b>Tableau 2.</b> Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	33
<b>Tableau 3.</b> Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	33
<b>Tableau 4.</b> Répartition des souches selon la source de prélèvement .....	38
<b>Tableau 5.</b> Biotypes des souches identifiées .....	39



*Liste des  
figures*



## *Liste des figures*

<b>Figure 1.</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope électronique .....	4
<b>Figure 2.</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> vue au microscope électronique .....	8
<b>Figure 3.</b> Structure du noyau $\beta$ -lactame .....	13
<b>Figure 4.</b> Structure des $\beta$ -lactamines .....	14
<b>Figure 5.</b> Principaux mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques .....	19
<b>Figure 6.</b> Principe du test Hodge Modifié .....	34
<b>Figure 7.</b> Test IMP-EDTA .....	35
<b>Figure 8.</b> Répartition des prélèvements selon la présence des BGNnfs .....	36
<b>Figure 9.</b> Répartition des BGNnFs isolées et identifiées à partir du service de maternité .....	37
<b>Figure 10.</b> Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>P.a</i> .....	41
<b>Figure 11.</b> Résistance aux antibiotiques de <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> .....	42
<b>Figure 12.</b> Sensibilité aux antibiotiques des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	43
<b>Figure 13.</b> Résultat positif de test Hodge Modifié sur Muller Hinton .....	44
<b>Figure 14.</b> Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de <i>P. aeruginosa</i> .....	45
<b>Figure 15.</b> Résultat de test IPM-EDTA .....	46



*Liste des  
photos*



## *Liste des photos*

<b>Photo 1.</b> Boîte de Pétri coulée en Mac Conkey etensemencée par écouvillonnage .....	25
<b>Photo 2.</b> Boîte de Pétri coulée en Cétrimide etensemencée par écouvillonnage .....	25
<b>Photo 3.</b> Résultat de coloration de Gram .....	27
<b>Photo 4.</b> Résultat de test oxydase .....	28
<b>Photo 5.</b> Résultat de test catalase .....	29
<b>Photo 6.</b> Réalisation de la Galerie API 20NE .....	30
<b>Photo 7.</b> Tube de GN inclinée préparé pour la conservation des souches .....	31
<b>Photo 8.</b> Aspect des isolats bactériens sur milieu Mac Conkey .....	38
<b>Photo 9.</b> Aspect des isolats bactériens sur milieu Cétrimide .....	39
<b>Photo 10.</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> identifiées par Galerie API 20NE ... ..	40



# *Table des matières*



## *Table de matière*

Remerciements .....	i
Dédicaces .....	iii
Résumés .....	v
Liste des abréviations .....	viii
Liste des tableaux .....	x
Liste des figures .....	xi
Liste des photos .....	xii
Table des matières .....	xiii
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b>	
Chapitre I : Bacilles à Gram négatif non fermentants .....	3
1. Généralités .....	3
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
2.1. Définition .....	3
2.2. Classification .....	4
2.3. Habitat .....	4
2.4. Caractères bactériologiques .....	5
2.4.1. Caractères morphologiques .....	5
2.4.2. Caractères biochimiques .....	5
2.4.3. Caractères cultureux .....	6
2.5. Pathogénicité .....	6
2.6. Facteurs de virulence .....	7
2.7. Epidémiologie .....	7
3. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	8
3.1. Définition .....	8
3.2. Classification .....	9
3.3. Habitat .....	9

3.4. Caractères bactériologiques.....	9
3.4.1. Caractères morphologiques .....	9
3.4.2. Caractères biochimiques .....	10
3.4.3. Caractères culturels .....	10
3.5. Pathogénicité .....	10
3.6. Facteurs de virulence.....	11
3.7. Epidémiologie .....	11
 Chapitre II : Antibiotiques.....	 13
1. Définition .....	13
2. Classification des antibiotiques .....	13
2.1. $\beta$ -lactamine .....	13
2.1.1. Définition .....	13
2.1.2. Classification .....	14
2.1.2.1. Pénames .....	14
2.1.2.2. Céphèmes .....	14
2.1.2.3. Carpapénèmes .....	15
2.1.2.4. Monopactames.....	15
2.1.3. Mode d'action des $\beta$ -lactamine.....	16
2.2. Aminosides .....	16
2.3. Quinolones.....	17
2.4. Autres antibiotiques .....	17
 Chapitre III : Résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants...	 18
1. Définition de la résistance aux antibiotiques.....	18
2. Types de résistance aux antibiotiques.....	18
2.1. Résistance naturelle .....	18
2.2. Résistance acquise .....	18
3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	18
3.1. Résistance enzymatique .....	19
3.2. Résistance par modification de la cible .....	21
3.3. Résistance par diminution de la perméabilité .....	21
3.4. Résistance par efflux actif .....	21

## Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Objectif .....	23
2. Lieu et durée d'étude .....	23
3. Présentation de l'hôpital de Méchéria (Ikhwa Rahmani).....	23
4. Prélèvements .....	23
5. Ensemencements .....	24
6. Identification .....	26
6.1. Coloration de Gram.....	26
6.2. Test oxydase .....	27
6.3. Test catalase .....	28
6.4. Galerie API 20 NE .....	29
7. Conservation des souches .....	31
8. Antibiogramme .....	32
9. Test Hodge Modifié .....	34
10. Test IMP-EDTA .....	35

## Partie 3 : Résultats et discussion

I. Résultats .....	36
1. Prélèvements .....	36
2. Résultat d'identification des souches BGNnFs isolées .....	37
2.1. Fréquence des souches isolées .....	37
2.2. Répartition des prélèvements positifs .....	38
2.3. Résultat d'identification des souches BGNnFs .....	38
II. Discussion .....	47
<b>Conclusion</b> .....	51
<b>Références bibliographiques</b> .....	52

## Annexes



# *Introduction*



L'arrivée des antibiotiques dès les années 1940 avait donné une incroyable puissance aux médecins. Des nombreuses infections allaient être vaincues grâce à ces armes radicales contre les nombreuses maladies dues aux bactéries pathogènes. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques (**Christian, 2014**).

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste un problème majeur de santé publique, la situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, où se dissémine les bactéries responsables d'infection qui sont les plus souvent : les staphylocoques et certains bacilles à Gram négatif ; entérobactéries, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, parce que c'est un environnement favorable aux échanges de matériel génétique entre les bactéries propices au développement des résistances bactériennes multiples (**Soussy, 2007**).

Les bactéries à Gram négatif constituent une large catégorie de micro-organismes qui sont incapables de retenir une coloration de cristal violet en raison de la structure distincte de leur paroi cellulaire. Parmi ceux-ci, les entérobactéries de même que les bactéries non-fermentants forment deux groupes largement responsables de plusieurs maladies infectieuses (**Laurent et al., 2008 ; Piednoir et al., 2011**).

Les bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNnFs) sont des bactéries aérobies strictes, pathogènes opportunistes, responsables d'infections nosocomiales caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation, les bactéries les plus souvent de ce groupe sont les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (**Chenika, 2013**).

Avec un large arsenal de facteurs de virulence, ces bactéries provoquent une gamme d'infections aiguës et chroniques en milieu communautaire, mais surtout en milieu hospitalier où il est impliqué dans diverses infections associées aux soins (**Memdough et Reddaf, 2018**).

Dans certains cas, ces bactéries peuvent pénétrer dans l'organisme par le biais de cathéters, de ventilateurs respiratoires, ou directement dans une plaie. L'entrée de ces micro-organismes peut conduire à une infections respiratoire, urinaires, du site opératoire ou à une septicémie. Ces types d'infections affectent majoritairement les personnes immunosupprimées et les personnes âgées, représentant généralement la clientèle des établissements de soins de santé (**Marilyse, 2015**).

Les différents agents antimicrobiens développés avec le temps représentent des outils thérapeutiques de choix pour le contrôle des infections causées par ces micro-organismes. Malheureusement, l'incidence de la résistance aux antibiotiques chez les BGNnFs a augmenté à un rythme alarmant au niveau mondial (**Nordmann et al., 2011; Woodford et al., 2011 ;Cantòn et al., 2012 ; El Salabi et al., 2013**).

*A. baumannii* et *P. aeruginosa* illustrent parfaitement cette capacité d'adaptation des microorganismes face à un environnement hostile, grâce à leurs résistances naturelles à des nombreux antibiotiques et aussi à leurs capacités d'acquérir de nombreux mécanismes de résistance (**Touati, 2013**).

La détection de cette résistance permet de prévenir et de ralentir la diffusion de souches multirésistantes et d'optimiser le choix de l'antibiothérapie (**Liazid, 2012**).

Le but de ce travail présente un aspect fondamental qui vise à étudier la sensibilité aux antibiotiques des BGNnFs isolées au niveau de service de maternité de l'hôpital de Mécheria.

La première partie de ce travail sera bibliographique divisée en trois chapitre ; le premier décrira les BGNnFs en particulier les deux souches : *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, le deuxième sera sur les antibiotiques et leurs modes d'action, et le troisième chapitre parlera sur les mécanismes de résistances de ces bactéries aux déférentes antibiotiques. La seconde partie présentera le matériel utilisé et les méthodes suivies pour réaliser cette étude. La troisième partie exposera les résultats obtenus et une discussion.



*Partie 1: Synthèse  
bibliographique*



# *Chapitre I*



## I. Bacilles à Gram négatif non fermentants

### 1. Généralités :

Les bacilles à Gram négatif non fermentants occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse. Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent et leur incidence au niveau de la santé des populations (**Achkour, 2012**).

Les BGNnFs sont des bactéries aérobies strictes qui se développent habituellement sur milieu ordinaire et qui sont caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation (**Richard et Keredjian, 1995**).

Les BGNnFs sont des bactéries ubiquitaires, largement présentes dans l'environnement, se développent entre 4 et 42 °C. Ils ne survivent habituellement que quelques heures dans un environnement sec. En revanche, ils peuvent survivre et se multiplier dans l'environnement hydrique. Elles sont dites pathogènes opportunistes, elles peuvent être responsables d'infections cliniques sur des terrains débilisés. Elles peuvent coloniser les patients au niveau du nez, de la gorge, du tube digestif et de la peau (**Berthelot et al., 2005**).

Les BGNnFs comportent *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Kingella*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Bordetella*, *Flavobacterium* et *Sphingobacterium*. Et les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont les bactéries les plus fréquemment isolées lors d'infections nosocomiales (**Berthelot et al., 2005**). Ces bactéries caractérisées par une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, et pouvant acquérir de nombreuses autres mécanismes de résistance (**Enoch et al., 2007**).

### 2. *Pseudomonas aeruginosa* :

#### 2.1. Définition :

*Pseudomonas aeruginosa* a été décrit pour la première fois en 1882 par Carle Gessard sous le nom de « bacille pyocyanique ». Le mot issu du grec *pseudo* (=simili ou imitation) et *monas* (=unité) désignait les germes du début de la microbiologie (**Boudouda, 2015**). Le mot *aeruginosa* en latin qui signifie vert de gris, fait référence au pigment produit par la bactérie et qui donne à la colonie sa couleur caractéristique (**Richard, 2010**).

*Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la plus étudiée en termes de répartition géographique et d'habitats préférentiels (Pirnay et al., 2009).



**Figure 1.** *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope électronique (Michael, 2016)

## 2.2. Classification :

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif appartenant du règne Bacteria, de la division Proteobacteria, Classe Gammaproteobacteria, Ordre Pseudomonadales, Famille Pseudomonadaceae, et du Genre *Pseudomonas* (Brenner, 2005).

Cette espèce comporte 17 sérotypes. Cette classification repose sur la diversité de la chaîne O des lipopolysaccharides (LPS), un complexe où sont étroitement associés glucides, lipides et protéines. La spécificité antigénique de la chaîne O repose sur le mode de liaison des LPS (Handcock et al., 1979; Handcock, 1984; Handcock, 1985).

## 2.3. Habitat :

*Pseudomonas aeruginosa* est ubiquitaire et vit comme saprophyte dans l'eau douce, la mer, les sols humides et à la surface de très nombreux végétaux. Elle vit également à l'état commensal dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elle est isolée rarement de la peau et

des muqueuses de l'homme et des animaux (**Richard, 2010**). De nombreuses souches pouvant se développer à basse température (souches psychrophiles) contaminent les denrées alimentaires ou produits pharmaceutiques conservés au réfrigérateur. Elle peut aussi contaminer le matériel hospitalier, hôtelier (robinetterie), médical (sondes, trocarts, cathéters) ou chirurgical (instruments, matériels de prothèse), les solutions antiseptiques, les solutés injectables, des produits médicamenteux ou cosmétiques (**Palleroni, 1894**).

## 2.4. Caractères bactériologiques :

### 2.4.1. Caractères morphologiques :

*P. aeruginosa* est une bactérie Gram négatif, non sporulant, mobile grâce à un flagelle mono-triche polaire. Les souches de cette espèce sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur (**Beaulac, 1995**).

La morphologie de *P.a* de même que pour tout le genre *Pseudomonas* est facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert fluorescent, dérivé de la phénazine. La production de pyocyanine est largement favorisée par l'utilisation d'un milieu très bien aéré contenant peu de sels (**Christian, 1995 ; Elmeskini, 2011**).

### 2.4.2. Caractères biochimiques :

*P. aeruginosa* a un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobic stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobic.

C'est une bactérie présentant une réaction positive au test oxydase, nitrate réductase, catalase, ADH (Arginine-deshydrogénase) et citrate de Simmons, hydrolysant la gélatine (gélatinase très active). Il donne une réponse négative aux tests LDC (Lysine Décarboxylase), ODC (Ornithine Décarboxylase), indole, β-galactosidase, uréase, production d'hydrogène sulfuré, hydrolyse de l'amidon, hydrolyse de l'esculine et lécithine (**Touati, 2013**).

*P. aeruginosa* assimile de nombreux composés carbonés (acétamide, acétate, D-alanine, L-arginine, butyrate, géraniol, glucose, lactate, malonate, mannitol, propionate), mais elle n'utilise ni l'adonitol ni l'inositol ni le maltose ni le mucate ni le saccharose ni le sorbitol ni le tréhalose (**Touati, 2013**).

*P. aeruginosa* n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. Les milieux MEVAG (Milieu pour l'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides) ou de Hugh et Leifson sont spécialement destinés à mettre cette propriété en évidence (**Lie, 2002**).

#### 2.4.3. Caractères cultureux :

La croissance de *P. aeruginosa* est possible à des températures variant de 5 à 42°C, avec un optimum de croissance à 37°C. La bactérie se cultive facilement dans un milieu synthétique minimal simple en présence de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> comme source d'azote, de glucose et d'asparagine comme source de carbone (**Fick et al., 1989**).

Un milieu sélectif contenant du cétrimide peut être utilisé afin d'isoler *Pseudomonas aeruginosa* à partir de prélèvement polymicrobiens. Les aspects des colonies sont de trois types :

- ✚ **Colonies LA (Large)** : grandes, rugueuses avec un centre plus bombé et un bord irrégulier.
- ✚ **Colonies SM (Small)** : rondes, petites, convexe et lisses
- ✚ **Colonies M (Muqueuses)** : bombées, opaques, visqueuses, filantes ou parfois coulantes (**Gellen-Dutremer, 2007**).

#### 2.5. Pathogénicité :

- *P. aeruginosa* est responsable d'infections sur un nombre extrêmement variable de sites (œil, oreille, plaie, brûlure, vessie, méninges, appareils pulmonaire et digestif) (**Rossignol, 2007**).
- *P. aeruginosa* est responsable de 16 % des infections pulmonaires, de 12% des infections du tractus urinaires, de 8% des infections touchant les grands brûlés et de 10% des infections du sang (bactériémie et/ou septicémie). Cette bactérie est également une des causes majeures de mortalité et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidose (**Rossignol, 2007**).
- Les contaminations par *P. aeruginosa* sont multiples et faciles. L'origine de l'infection à *P. aeruginosa* peut être endogène (le malade est porteur de façon asymptomatique puis s'auto-infecte), ou exogène (les bactéries peuvent alors provenir des malades comme du personnel soignant) (**Richard, 2010**).

## 2.6. Facteurs de virulence :

La virulence de *P. aeruginosa* dépend des facteurs qui sont soit directement associés à sa cellule (flagelle, pilli, LPS, alginate), soit excrétés dans le milieu extracellulaire (exotoxines, les phospholipases, la lectine...) (**Richard, 2005**).

- Le flagelle et les pilis qui participent à la mobilité de la bactérie, permettant un déplacement sur des surfaces plus ou moins solides (**Sophie, 2011**).
- *P.aeruginosa* présente les LPS, localisés dans la membrane externe, ils sont connus par l'activité endotoxique, ils sont également impliqués dans la stimulation de la réponse inflammatoire et dans les interactions avec les tissus hôtes, et les antigènes O qui les composent pourraient aussi être un moyen de défense de la bactérie contre la phagocytose (**Veron, 1983**).
- L'alginate joue un rôle important dans la formation du biofilm qui favorise l'adhésion aux cellules épithéliales (**Fox et al., 2006**) et protège la bactérie de la phagocytose, des anticorps, de l'action des antibiotiques et des désinfectants (**Ruimy et Andreumont, 2004**).
- *Pseudomonas aeruginosa* produit des sidérophores, qui permettent à la bactérie de se multiplier en absence de fer libre. (**Touati, 2013**)
- Les protéases permettent pour *P. aeruginosa* la destruction des barrières à l'invasion et la mise à disposition de nutriments favorisant sa croissance. (**Eyquem et al., 2000**)
- La lectine pourrait être impliquée dans la reconnaissance et l'adhésion bactérie-hôte, bactérie-bactérie ou encore bactérie-biofilm. (**Adam, 1997 ; Benhaj et al., 2011**)
- *Pseudomonas aeruginosa* produit la pyocyanine, c'est un pigment bleu impliqué dans de nombreux mécanismes de pathogénicité, ses propriétés oxydoréductrices lui permettent d'oxyder la glutathione, d'inactiver la catalase des cellules épithéliales bronchiques et ainsi de participer aux lésions liées au stress oxydatif (**Pouneh, 2009 ; Barir et Ghilani, 2012**).

## 2.7. Epidémiologie :

*P. aeruginosa* a la capacité de survivre pendant longues périodes dans l'humidité. Les infections associées à cette bactérie connues pour être difficiles à traiter, en raison de sa capacité à bien résister à beaucoup d'antibiotiques, et d'acquérir de nouveaux mécanismes de résistance très rapidement. Ce qui le qualifie de pathogène opportuniste impliqué par

excellence dans les infections nosocomiales les plus redoutables (**Memdouh et Reddaf, 2018**).

Il est responsable d'infections sur un nombre extrêmement variable de sites (œil, oreille, plaie, brûlure, vessie, méninges, appareils pulmonaire et digestif). On observe aussi de rares cas de septicémies. *P. aeruginosa* se classe en France, au troisième rang des bactéries responsables d'infections nosocomiales mais au premier rang dans le cas d'infections nosocomiales pulmonaires (**Richard, 2010**).

Les études épidémiologiques ont montré que les infections dues à *P.aeruginosa* sont endémoépidémiques avec une part de transmission croisée non négligeable pouvant atteindre 50% des cas (**Elrouini, 2018**).

Les épidémies de souches de *P.aeruginosa* multirésistantes dans les unités de soins intensifs sont souvent associées avec une grande fréquence de mortalité (**Elrouini, 2018**).

### 3. *Acinetobacter baumannii* :

#### 3.1. Définition :

En 1954, Brisou et Prevot ont décrit le genre *Acinetobacter* (du Grec *Akinetos*, signifiant immobile). Ce genre comporte 12 espèces, parmi eux *Acinetobacter baumannii* qui a nommé en l'honneur des biologistes américains Paul et Linda Baumann (**Hélène, 2016**).



**Figure 2.** *Acinetobacter baumannii* vue au microscope électronique (**Kateryna, 2017**)

Cette espèce est régulièrement responsable d'infections humaines et fréquemment résistant à de nombreux antibiotiques. *A. baumannii* est le seul *Acinetobacter* à l'origine de véritables épidémies hospitalières (Flandrois, 1997; Avril et al., 2000).

### 3.2. Classification :

Le genre *Acinetobacter* compte de nombreuses espèces, sa classification est complexe et en remaniement fréquent (Dortet et al., 2006).

*Acinetobacter baumannii* est une bactérie à Gram négatif appartenant du règne Bacteria, de la division Proteobacteria, Classe Gammaproteobacteria, Ordre Pseudomonadales, Famille Moraxellaceae, et du genre *Acinetobacter* (Hélène, 2016).

### 3.3. Habitat :

Bien que la plupart des espèces d'*Acinetobacter* soient ubiquitaires (sol, eau, végétaux, hommes), *Acinetobacter baumannii* n'a pas de réservoir naturel connu en dehors de l'hôpital (Peleg et al., 2008).

Lors d'épidémies hospitalières, *A. baumannii* est retrouvé dans l'environnement clinique immédiat du malade (appareils de ventilation, lit, matelas, tables...) et dans l'environnement humide (siphons de lavabo, linge humide...) ainsi que sur les mains des soignants. En effet, ce germe possède une capacité de survie prolongée dans l'environnement, il résiste longtemps dans des conditions environnementales variées, et résiste bien à la dessiccation. La durée moyenne de survie sur une surface sèche a été estimée à un mois (Camille, 2014).

### 3.4. Caractères bactériologiques:

#### 3.4.1. Caractères morphologiques :

*Acinetobacter baumannii* sont des bacilles à Gram négatif, mesurant de 1 à 1.5 µm de diamètre sur 1.5 à 2.5 µm de longueur, immobiles, non sporulés, parfois capsulés, trapus, souvent associés en paire ou en courtes chaînes, formes filamenteuses dans les cultures âgées (Touati, 2013).

### 3.4.2. Caractères biochimiques :

*A.baumannii* est une bactérie aérobie stricte, non fermentante, catalase positive, oxydase négative. Beaucoup de tests biochimiques sont classiquement négatifs : la tryptophanase, la nitrate réductase, la DNase, la  $\beta$ -galactosidase, la thiosulfate réductase, ou la décarboxylase pour la lysine (Peleg et al., 2008).

### 3.4.3. Caractères cultureux :

*A.baumannii* est une bactérie cultivant facilement sur les milieux usuels, tels la gélose au sang ou la gélose trypticase soja, à une température de 37°C. Cependant, *A. baumannii* possède également la faculté de cultiver à 44°C, ce qui permet de le distinguer d'autres espèces du genre *Acinetobacter* (Hélène, 2016).

Cette bactérie peut présenter deux aspects de colonies différents :

- ✚ Colonies « Smooth » ou lisses : les souches capsulées vont former sur la boîte des colonies muqueuses de couleur blanche-grise.
- ✚ Colonies « Rough » ou rugueuses : les souches non capsulées vont présenter des colonies non muqueuses, d'aspect rugueux, de couleur blanche-grise et de taille plus petite (Bouvet et Joly-Guillou, 2007).

### 3.5. Pathogénicité:

*A.baumannii* est une bactérie reconnue comme responsable d'une grande variété d'infections nosocomiales sévères, parmi les infections nosocomiales, les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) et les septicémies sont les plus fréquentes (Dijkshoorn et al., 2007).

Elle est également communément associée à des bactériémies nosocomiales, particulièrement dans les services de soins intensifs (Wisplinghoff et al., 2004).

*A.baumannii* est une bactérie responsable des infections urinaires et des infections cutanées, essentiellement de surinfections de plaies chez des patients avec des brûlures ou des traumatismes sévères, aussi la méningite qui est associée à une mortalité importante (Wisplinghoff et al., 1999 ; Yang et al., 2012 ).

Enfin, d'autres types d'infections nosocomiales existent mais sont plus rarement rapportées dans la littérature, comme des endocardites liées à des valves prothétiques, ou des endophtalmies ou kératites post chirurgicales (**Peleg et al., 2008**).

### 3.6. Facteurs de virulence:

*A.baumannii* est un pathogène opportuniste, peu ou pas virulent chez l'individu sain. Cependant, la bactérie peut compter sur un certain nombre de facteurs de virulence pour se développer chez des patients fragilisés ou persister à l'hôpital. En voici quelques exemples:

- L'hydrophobicité de la surface cellulaire favorise la colonisation de différents polymères (**Longo et al., 2014**). Grâce notamment à la protéine de membrane externe OmpA, *A.baumannii* peut adhérer aux cellules épithéliales de l'hôte (**Choi et al., 2005 ; Lee et al., 2010**).
- La production d'exopolysaccharides protège la bactérie vis-à-vis des défenses de l'hôte (**Tomaras et al., 2003**).
- Le quorum-sensing est un mécanisme de régulation largement présent chez les bactéries à Gram négatif. *A. baumannii* possède plusieurs de ce système ayant un rôle dans l'auto-induction de multiples facteurs de virulence (**Niu et al., 2008**).
- Le biofilm permet de résister aux défenses immunitaires, aux antibiotiques et aux antiseptiques, ainsi qu'aux environnements hostiles (**Vidal et al., 1996 ; Tomaras et al., 2003**).
- La captation du fer est sous la dépendance d'un sidérophores du type aérobactine et appelé acinétoabactine et de protéines de membrane externe dont la synthèse est réprimée en présence de fer dans l'environnement (**Touati, 2013**).

### 3.7. Epidémiologie :

Les capacités de survie d'*A. baumannii* sur une surface sèche et sa résistance à la dessiccation font de cette bactérie un pathogène redoutable en milieu hospitalier où il peut fréquemment être responsable d'épidémies (**Jawad et al., 1998**).

Dès les années 1980, *A.baumannii* a été identifié comme responsable d'épidémies hospitalières, notamment en Europe et aux Etats-Unis (**Peleg et al., 2008**). Ces épidémies frappent en majorité les unités de soins intensifs (**Towner, 2009**).

La manifestation la plus frappante et la plus menaçante est la multiplication d'évènements endémiques ou épidémiques à *A. baumannii* MDR (**Dijkshoorn et al., 2007**).

Le seul point positif est que les infections potentiellement sévères comme les bactériémies ou les pneumonies en soins intensifs nécessitant une intubation ne semblent pas être associées à une augmentation du taux de mortalité ou à une augmentation de la durée d'hospitalisation (**Fournier et Richet, 2006**).

# *Chapitre II*



## II. Antibiotiques

### 1. Définition :

Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique (**Lavigne, 2007**). Ayant le pouvoir d'inhiber et même de détruire les bactéries et autres microorganismes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large.

Les antibiotiques sont caractérisés par :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité)
- Toxicité sélective (mode d'action)
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique)
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme (**Mehdi, 2008**).

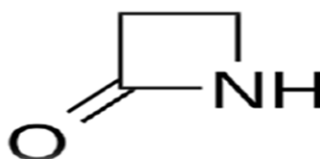
### 2. Classification des antibiotiques:

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (**Yala et al., 2001**).

#### 2.1. $\beta$ -lactamine :

##### 2.1.1. Définition :

Les  $\beta$ -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle  $\beta$ -lactame (**Figure 3**). Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides (**Cavallo et al., 2004**).



**Figure 3.** Structure du noyau  $\beta$ -lactame. (**Kong et al., 2010**).

### 2.1.2. Classification :

La base commune à toutes les  $\beta$ -lactamines est le noyau  $\beta$ -lactame. À partir de ce cycle, quatre sous-familles ont été développées par adjonction de chaînes latérales : les pénèmes (pénicillines), les céphèmes (céphalosporines), les monobactames et les carbapénèmes (Figure 4) (Bryskier, 1984).

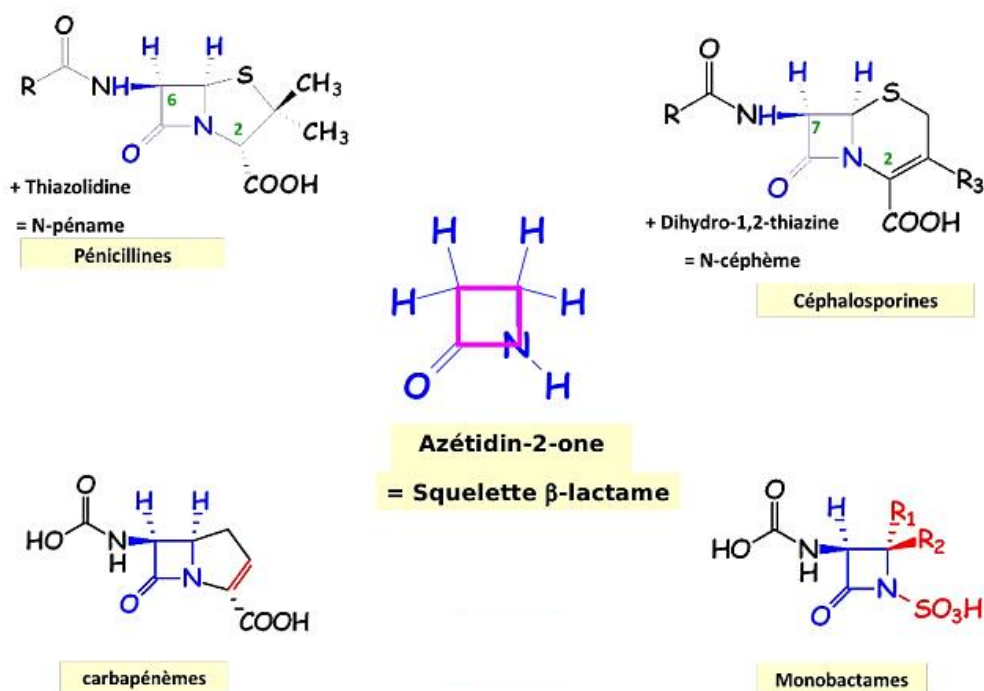


Figure 4. Structure des  $\beta$ -lactamines (Hervé, 2017)

#### 2.1.2.1. Pénames :

Également appelées les pénicillines, les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau  $\beta$ -lactame. Elles se différencient par la nature de leur chaîne latérale (Nauciel, 2000).

#### 2.1.2.2. Céphèmes :

Constituées d'un noyau  $\beta$ -lactame associé à un noyau dihydrothiazine (Yala *et al.*, 2001). On distingue quatre générations de céphalosporines. Elles sont classées en fonction de leur date d'apparition, qui correspond à chaque fois à l'acquisition de nouvelles propriétés (Bryskier, 1984) :

- ✓ **Première génération** : Exp : Céfalotine, Céfazoline. Parmi eux, certaines ne sont plus commercialisées (**Allain, 2008**).
- ✓ **Deuxième génération** : Elle est caractérisée par une meilleure résistance aux  $\beta$ -lactamases et un spectre d'action plus large, une activité à faible concentration, une bonne diffusion tissulaire. Exp : Céfamandole, céfuroxime, céfoxitine (**Allain, 2008**).
- ✓ **Troisième génération** : Exp : Céfotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone (**Toure, 2004**)
- ✓ **Quatrième génération** : Elle reste active chez les entérobactéries ayant acquis une résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération par hyperproduction d'une céphalosporinase, et inactive en cas de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu. Exp : Céfépime, Cefpirome (**Hincky, 2008**).

### 2.1.2.3. Carpapénèmes :

Carbapénèmes constituent un atome de carbone et une liaison insaturée en C2 et C3 (**Wolff et al, 2009**). Elles présentent un très large spectre d'activité et une grande stabilité vis à vis de la plupart des  $\beta$ -lactamases. L'imipénème, le méropénème et l'ertapénème sont les antibiotiques les plus disponibles en clinique (**Zhanel et al, 2005**). Le doripénème garde une meilleure activité sur les bacilles à Gram négatif et particulièrement sur les aérobies stricts (**Zaharet al, 2009**).

### 2.1.2.2. Monopactames :

Monopactames caractérisent par la présence du noyau monocyclique azétidine, limité au cycle  $\beta$ -lactame (Exp : Aztréonam) (**Cavallo et al., 2004**).

Ils sont très actifs sur les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*. L'Aztréonam chef de file de cette classe a une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif et présente une bonne stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases de spectre restreint (**Ramoul, 2003**).

De plus, les monobactames constituent les seules  $\beta$ -lactamines non hydrolysées par la métallobetalactamases (**Ramoul, 2003**).

### 2.1.3. Mode d'action des $\beta$ -lactamine :

Les  $\beta$ -lactamines ont un mécanisme d'action identique, elles inhibent la synthèse de la paroi bactérienne (**Cavallo et al., 2004**).

En phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane (**Perronne, 1999**).

Les cibles des  $\beta$ -lactamines sont les Protéines liant les pénicillines (PLP), les  $\beta$ -lactamines se fixent sur les PLP à la place du dipeptide d'alanine avec lequel elles présentent une analogie structurale (**Ramoul, 2013**). Cette fixation bloque la synthèse du peptidoglycane et de ce fait la croissance bactérienne ; c'est l'effet bactériostatique des  $\beta$ -lactamines (**Touati, 2013**).

Tandis que l'effet bactéricide résulte de phénomène secondaire déclenché par l'inhibition des PLP, puis une altération du peptidoglycane qui induit une activation dérégulée des autolysines pariétales (mureine hydrolase et endopeptidase) conduisant à la lyse bactérienne (**Pourriat et al., 2005**).

Chez les bactéries à Gram négatif, les  $\beta$ -lactamines doivent d'abord traverser la membrane externe par l'intermédiaire de porine, diffuser dans l'espace périplasmique et atteindre leur cible située sur la partie externe de la membrane cytoplasmique (**Moulin et Coquerel., 2002**).

### 2.2. Aminosides :

Les aminosides ont en commun un ou plusieurs cycles glucosidiques et un cycle cyclohexane substitué, en position 4,6 pour la majorité d'entre eux (Amikacine, Dibécacine, Gentamicine, Isépamicine, Kanamycine, Nétilmicine, Sisomicine et Tobramycine). Ce sont des cations, stables aux variations de température et de pH, très hydrosolubles, qui possèdent un large spectre antibactérien (**Poole, 2004**).

Les aminosides perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne (**Yala et al., 2001**).

Ils se fixent sur le ribosome et provoquent la fixation d'un ARNt incorrect sur l'ARNm, ce qui perturbe la reconnaissance codon-anticodon et induit la synthèse de protéines erronées (**Marty, 2000**).

### 2.3. Quinolones:

Appelés aussi fluoroquinolones car contenant un atome de fluor en position 6, dérivé de la quinoléine (**Thomas, 2006**). Les quinolones sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimiques, qui se dérivent d'acides carboxyliques hétérocycliques diversement substitués (**Page et al, 1999**). Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4. Ex : Ofloxacin, Ciprofloxacin, Lévofoxacin, Trovafloxacin, Gémifloxacin, Moxifloxacin et Garénoxacin (**Faure, 2008**).

Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien où ils agissent sur deux enzymes impliquées dans la réplication et à la transcription : ADN gyrase et ADN topo- isomérase IV, provoquant un effet bactéricide (**Larouche, 2001**).

### 2.4. Autres antibiotiques :

- ✚ **Glycopeptides** : Ex : Vancomycine Teicoplanine (**Nauciel et Vildé, 2005**).
- ✚ **Tetracyclines** : Ex : Oxytetracycline -Doxycycline –Glycylcyclines (**Bryskier, 1999**).
- ✚ **Oxazolidinones** : Ex : Linézolide (**Nauciel et Vildé, 2005**).
- ✚ **Sulfamides** : Ex : Sulfaméthoxazole, Sulfaméthizole, Sulfaguanidine (**Lambert, 1995**).
- ✚ **Polymixines** : Ex : Polymixine B, Colistine (**Avril et al., 2000**).
- ✚ **Sulfamides+ Trimethoprime** : Ex : Sulfaméthoxazole+ Trimethoprime (Cotrimoxazole) (**Bryskier, 1999**).
- ✚ .....etc.

# *Chapitre III*



### III. Résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants

#### 1. Définition de la résistance aux antibiotiques :

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce (**Leclerc et al., 1995**).

#### 2. Types de résistance aux antibiotiques :

Les bactéries sont naturellement résistants à de nombreux antibiotiques et peut acquérir de nombreux mécanismes de résistance comme pour les  $\beta$ -lactamines, les aminosides et les fluoroquinolones (**Berthelot et al., 2005**) :

##### 2.1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (**Lozniewski et al., 2010**).

##### 2.2. Résistance acquise :

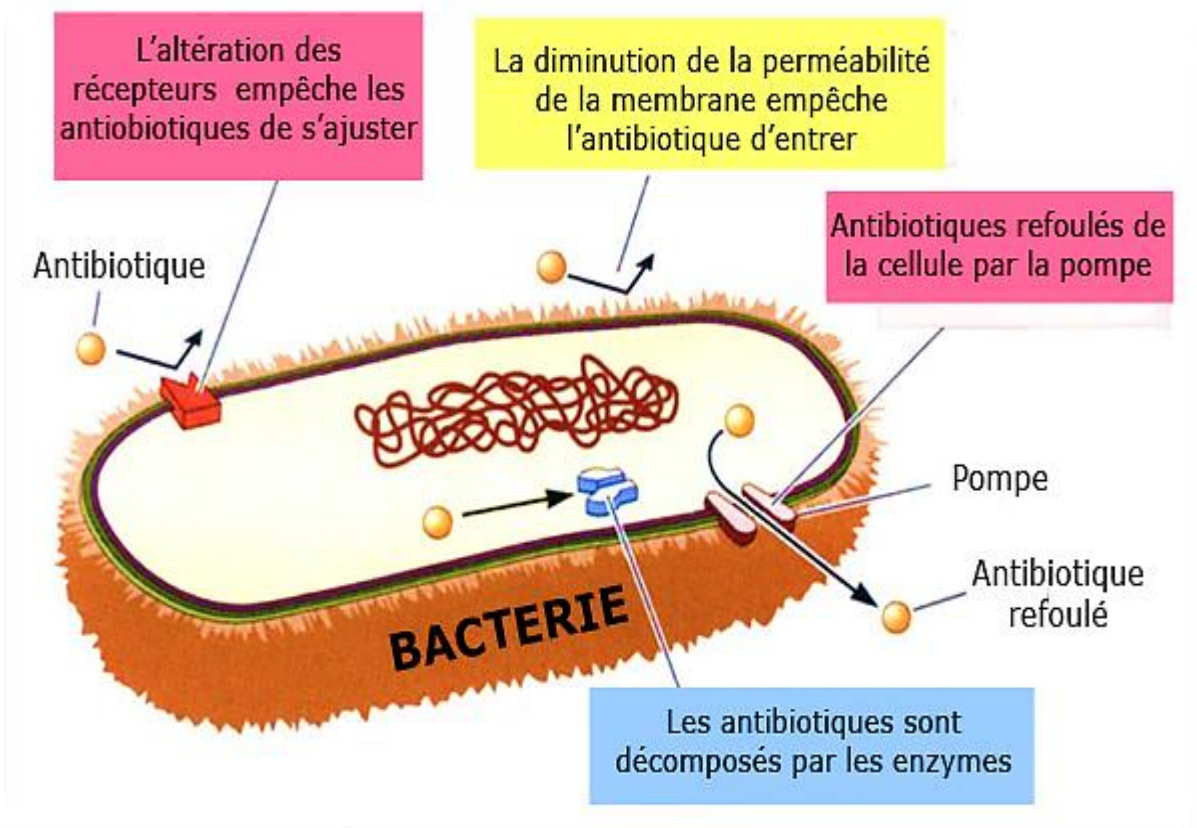
La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie (**Lozniewski et al., 2010**).

#### 3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques:

Les modes de résistance connus actuellement qui résultent de la pression de sélection exercée par les antibiotiques sont au nombre de quatre :

- ✚ La diminution de la perméabilité (porines) à l'antibiotique
- ✚ L'efflux actif
- ✚ La modification de la cible
- ✚ L'inactivation enzymatique par la sécrétion d'une enzyme

Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (**Droussi, 2020**).



**Figure 5.** Principaux mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques (Tortora et *al.*, 2012).

### 3.1. Résistance enzymatique :

C'est un mécanisme très fréquent, très important mais aussi très varié. Ces enzymes produites inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant (Poole, 2004).

#### a. Enzymes hydrolysantes :

Dans le cas des BGNnFs en particulier *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, la résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamines est due principalement à la production d'enzymes de type  $\beta$ -lactamases (classes A, C et D) ou métallo-enzymes (classe B) capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame (Philippon et Arlet, 2006).

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (classe A) sont très actives sur les pénicillines et moyennement actives sur les céphalosporines de première génération. Ils touchent également les céphalosporines de troisième génération (Ceftazidime et Cefotaxime), les Carbapénèmes et les monobactames (Aztréonam) (Vora et Auckenthaler, 2005).

Les métallo- $\beta$ -lactamases (classe B) sont caractérisés par la présence d'un ou deux atomes de  $Zn^{2+}$  dans leur site actif pour hydrolyser des  $\beta$ -lactamines (Nordmann et Guibert, 1998). L'activité enzymatique des carbapénèmases est inhibée par l'EDTA, qui chélate les ions zinc (Nordmann, 2002). Ils hydrolysent tous les  $\beta$ -lactamines à l'exception les monobactames (Conly et al., 2011).

L'enzyme VIM (Verona Imipénimase) est la MBL la plus fréquemment isolée chez *P. aeruginosa* et l'un des moyens les plus importants de résistance à l'imipénème (Lee et al., 2005).

Les céphalosporinases AmpC (classe C) affectent principalement l'activité de la Ticarcilline, de l'association Piperacilline/Tazobactam, de l'Aztreonam et dans une moindre mesure des céphalosporines et des Carbapénèmes (Bagge et al., 2002 ; Nordmann et al., 2009).

Les oxacillinases (classes D) hydrolysent les Uréidopénicillines, l'Oxacilline, la Méthicilline et Cloxacilline mais ils n'hydrolysent pas les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (Ceftazidimes) ni l'Aztréonam, et leur activité est inhibée par NaCl ((Bradford, 2001; Héritier et al., 2005 ; Hélène, 2016).

#### b. Enzymes modifiantes :

C'est un mécanisme majeur de la résistance aux aminosides repose sur l'acquisition d'enzymes plasmidiques inactivatrices des aminosides. Trois classes d'enzymes ont été décrits chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :

- ✚ Aminoside N-amino-acétyltransférases (AAC) qui catalysent l'acétylation des fonctions – NH<sub>2</sub>.
- ✚ Aminoside phosphotransférases (APH) permettent la phosphorylation des fonctions-OH.
- ✚ Aminoside nucléotidyltransférase (ANT) qui permettent la nucléotidylation des fonctions-OH (Wright, 1999 ; Cho et al., 2009).

Les agents pathogènes à Gram négatif y compris *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont capables de produire des méthylases qui permet la méthylation de l'ARNr 16S et confère une résistance aux aminosides (Gentamicine, Tobramycine et Amikacine) (Doi et Arakawa, 2007; Peleg et al., 2008).

### 3.2. Résistance par modification de la cible :

Les BGNnFs peuvent devenir résistantes aux antibiotiques par des mutations ponctuelles au niveau de la cible, affectant ainsi l'affinité de celle-ci pour l'antibiotique. C'est un mécanisme principal de la résistance aux fluoroquinolones (Mcdermontt et al., 2003 ; Yoneyama et Katsumata., 2006).

*P. aeruginosa* et *A. baumannii* peuvent subir des mutations au niveau des gènes Par C codant pour une sous-unité de l'ADN gyrase, ou pour une sous-unité de la topoisomérase IV (Bergogne-Berezin, 1997).

La modification des protéines liant les pénicillines (PLP) à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii* n'est que très rarement investiguée mais il semble que la régulation de l'expression des PLP puisse être associée à une diminution de sensibilité aux carbapénèmes (Fernandez-Cuenca et al., 2003).

### 3.3. Résistance par diminution de la perméabilité :

L'imperméabilité est due aux modifications des OMP ayant pour conséquence la prévention de l'entrée des molécules antibiotiques. Elle joue un rôle dans la résistance chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii* aux  $\beta$ -lactamines (Livermore, 2002; Quale, 2006 ; Hélène, 2016), ce mécanisme peut signaler une résistance de bas niveau aux aminosides (Evans et al., 1994).

La résistance aux carbapénèmes est reliée à la perte de la porine OprD chez *P. aeruginosa* et CarO chez *A. baumannii* en l'absence de toute carbapénémase (Limansky, 2002; Livermore, 2002).

Un défaut de charge négative au niveau du lipopolysaccharide résulte d'une altération de différents gènes impliqués dans leur biosynthèse réduit la pénétration intracellulaire des aminosides chez *P. aeruginosa* (Goldberg e al., 1992 ; Evans et al., 1994).

### 3.4. Résistance par efflux actif :

Ce sont des mécanismes de transport membranaire universellement répandus chez des organismes vivants. Ils ont un rôle clé dans la physiologie bactérienne (Transport de substances nutritives et export de substances toxiques) (Sibylle, 2011).

L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie (**Droussi, 2020**).

Ce système fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou pompe, une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine péri-plasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes (**Droussi, 2020**).

La résistance aux  $\beta$ -lactamines et aux fluoroquinolones par efflux actif s'effectue par le système RND (Resistance Nodulation-Division) de type MexAB-OprM pour *P. aeruginosa* (**Livermore, 2001**), et de type AdeABC (Ade : *Acinetobacter* drug efflux) pour *A. baumannii* (**Coyne et al., 2011**).

Les pompes d'efflux intervenants dans la résistance aux aminosides sont MexXY pour *P. aeruginosa* (**Vogne et al., 2004**), et AdeABC ou la pompe AdeM de type MATE (Multidrug and toxic exclusion) pour *A. baumannii* (**Decré, 2012**).



## *Partie 2: Matériel et méthodes*



**1. Objectif :**

Notre étude a été menée sur la recherche, l'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants à partir de plusieurs prélèvements, au niveau de service maternité de l'hôpital de Méchéria (Ikhwa Rahmani).

**2. Lieu et durée d'étude :**

Notre travail expérimental a été effectué durant la période deux mois à partir de 15 Janvier jusqu'à 15 Mars, au niveau du laboratoire de la microbiologie du centre universitaire, Salhi Ahmed, Naàma (C.U.N).

Les prélèvements que nous avons effectués sont provenus du service maternité de l'hôpital de Méchéria (Ikhwa Rahmani).

**3. Présentation de l'hôpital de Méchéria (Ikhwa Rahmani):**

L'hôpital de Méchéria (Ikhwa Rahmani) est un hôpital populaire situé au centre de la ville, il comprend trois services : laboratoire, pédiatrie et maternité.

Le service de maternité comprend 23 lits, il comporte un bureau d'admission obstétrique, chambre de garde, deux blocs ; bloc d'accouchement et bloc opératoire, salle pré-travail comprend 7 lits, salle de réveil comprend 3 lits, bureau pour les médecins, salle de soins, bureau de chef service, et en fin une salle sanitaire. Ce service emploie 4 gynécologues, 17 sages-femmes et 11 infirmières.

L'hôpital est coordonné par l'administration du grand hôpital « Ikhwa Chnafa ».

**4. Prélèvements :**

Nous avons effectué 22 prélèvements ; à partir de différents sites : des personnels hospitaliers, des patients, ou de l'environnement hospitalier (**Tableau 1**).

On fait passer un écouvillon imbibé par l'eau distillée stérile sur le site désiré pour chaque prélèvement, sauf pour les cathéters où on a coupé une partie de 4 ou 5 cm, puis on la met dans 1ml de l'eau physiologique stérile.

En fin, tous les prélèvements sont acheminés vers le laboratoire.

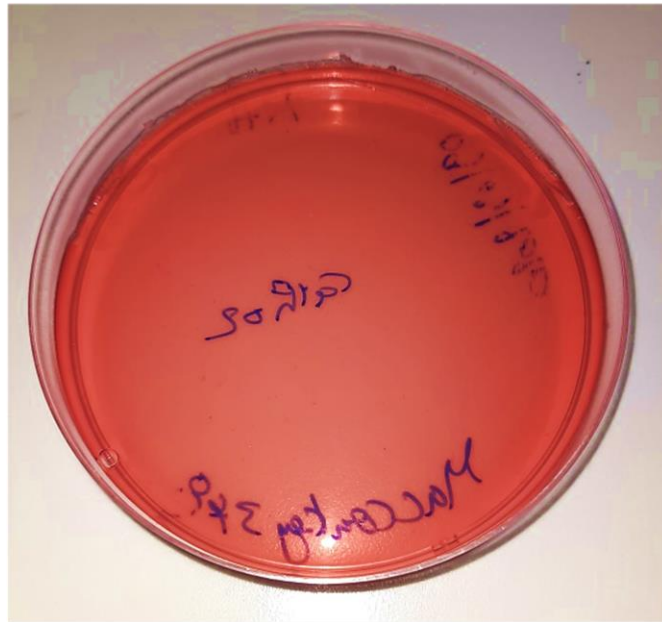
**Tableau 1.** Répartition de différents prélèvements.

Personnels hospitaliers		Patients		Environnement hospitalier	
Site	N° de prélèvement	Site	N° de prélèvement	Site	N° de prélèvement
Main	3	Plaie	2	Lits de bébé	2
		Cathéter	3	Balance de bébé	2
				Bacin	2
				Cutter électrique	2
				Autoclave	1
				Drat	2
				Chariot	1
				Poignée de port	1
				Lavabo	1

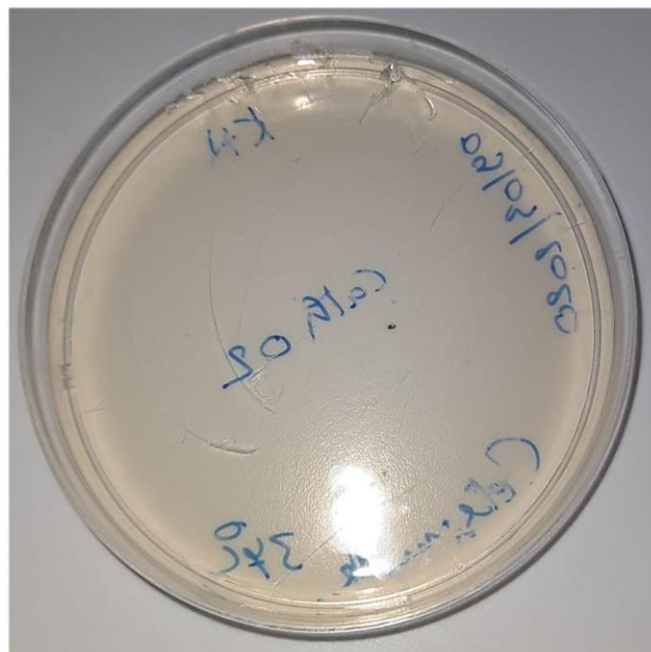
**5. Ensemencements :**

On a réalisé l'ensemencement par écouvillons de chaque prélèvement directement sur milieu Mac Conckey (**Photo 1**) et Cétrimide (Cetrimide est un milieu sélectif pour les bacilles pyocyaniques) (**Photo 2**), à l'exception des prélèvements des cathéters qui ont été ensemencés par étalement où on a mis 0.1 ml de la suspension préparée et homogénéisée déjà, sur les mêmes milieux. Les boîtes ensemencées ont été incubé à 37°C pendant 24 h.

Elles sont ensuite purifiées après plusieurs passages sur le même milieu.



**Photo 1.** Boite de Pétri coulée en Mac Conkey et ensemencée par écouvillonnage.



**Photo 2.** Boite de Pétri coulée en Cétrimide et ensemencée par écouvillonnage.

## 6. Identification :

L'identification des germes bactériens a été réalisée par:

- ✚ Coloration de Gram
- ✚ Test catalase
- ✚ Test oxydase
- ✚ Galerie API 20NE.

### 6.1. Coloration de Gram (Gram, 1884) :

Elle permet d'observer la morphologie des bactéries, leur groupement, et leurs affinités tinctoriales.

#### ➤ Principe :

La coloration de Gram repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'action successive des colorants mis en évidence cette différence.

Sur un frottis bactérien préparé, le premier colorant violet de gentiane va colorer les bactéries, puis il sera solubilisé par l'alcool lors de la phase de décoloration uniquement pour les bactéries à Gram négatif, et le deuxième colorant ; la fuchsine va colorer en rose les bactéries à Gram négatif, tandis que les bactéries à Gram positif vont conserver leur couleur violette.

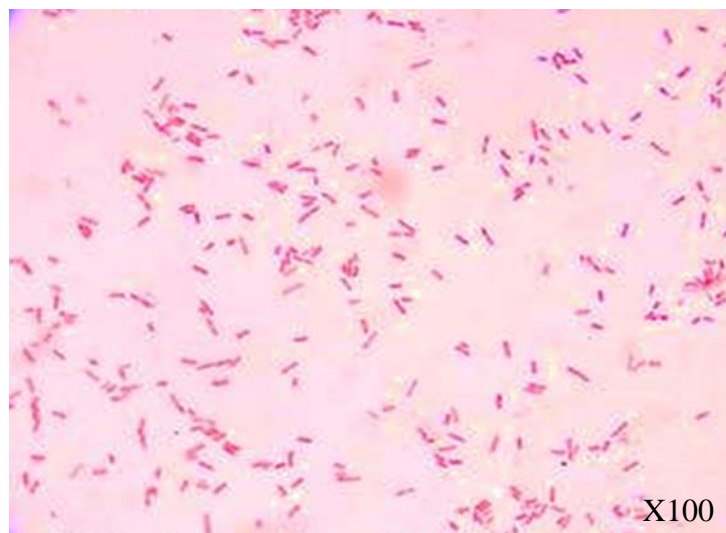
#### ➤ Technique :

- ✓ Réaliser un frottis et le fixer
- ✓ Coloration au Violet de Gentiane : la lame est plongée pendant 1 min dans cette coloration.
- ✓ Rincer à l'eau distillée.
- ✓ Mordançage au Lugol : étaler le Lugol et laisser agir 1 min
- ✓ Rincer à l'eau distillée.
- ✓ Décoloration à l'alcool : verser une goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement pendant 10 secondes.

- ✓ Rincer à l'eau distillée.
- ✓ Coloration à la Fuch sine: Mettre quelques gouttes de Fishine et Laisser agir 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée.
- ✓ Rincer à l'eau distillée
- ✓ Sécher entre deux feuilles de papier filtre
- ✓ Observer au microscope optique à l'objectif X100 à l'aide d'huile d'immersion.

➤ **Résultats :**

- ✚ Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet.
- ✚ Les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose (**Photo 3**).



**Photo 3.** Résultat de coloration de Gram.

**6.2. Test oxydase (Guillaume, 2004):**

➤ **Principe :**

Le test oxydase consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

➤ **Technique :**

- ✓ Mettre un disque oxydase sur une lame.
- ✓ Prélever une colonie des bactéries pures à l'aide d'une anse de platine et la mettre sur le disque.

➤ **Résultats :**

Une réaction positive se traduit par une coloration violette.

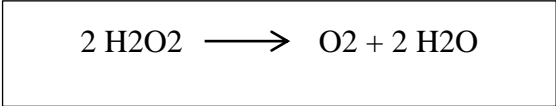


**Photo 4.** Résultat de test oxydase.

**6.3. Test catalase :**

➤ **Principe :**

Le test catalase consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie à catalyser peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène :



➤ **Technique :**

- ✓ Placer une petite quantité d'une colonie sur une lame de microscope
- ✓ Ajouter une goutte de peroxyde d'hydrogène 3%.

➤ **Résultat :**

Le catalase positive se traduit par la production des bulles de gaz, si il n y a aucune production de bulles, ceci indique un résultat négatif.



**Photo 5.** Résultats de test catalase.

**6.4. Galerie API 20 NE :**

➤ **Principe :**

La galerie API 20NE est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif.

Il comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

➤ **Technique :**

- ✓ Mettre de 5 ml de l'eau distillée stérile sur le fond de la boîte (partie alvéolée) pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Placer la galerie sur le fond la boîte.
- ✓ Réalisez une suspension bactérienne dans l'eau physiologique en ajustant la densité au point 0,5 de McFarland et homogénéiser soigneusement.
- ✓ Remplir les microtubes des tests NO<sub>3</sub> à PNPG (et non les cupules) avec la suspension précédente à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
- ✓ Transférer environ 200 µl de la suspension précédente dans une ampoule d'API AUX Medium pour remplir les microtubes et les cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave.
- ✓ Remplir les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) par d'huile de paraffine stérile pour former un ménisque convexe.
- ✓ Fermer la boîte d'incubation et incuber à 29°C ± 2°C pendant 24 heures.
- ✓ Ajouter une goutte de chaque réactif (NIT1 et NIT2) dans la cupule NO<sub>3</sub>.
- ✓ Ajouter une goutte de réactif Kovacs dans la cupule TRP.



**Photo 6.** Réalisation de la Galerie API 20NE.

➤ **Résultat:**

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture (Annexe 3), et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification (Annexe 4).

**7. Conservation des souches :**

- ✓ Préparer des tubes de gélose nutritive (GN) inclinée.
- ✓ Ensemencer en stries les tubes par la souche désirée.
- ✓ Incuber les tubes en 37 C° pendant 24 heures.
- ✓ Conserver les tubes à 4°C.



**Photo 7.** Tube de GN inclinée préparé pour la conservation des souches.

## 8. Antibiogramme (CA-SFM, 2019):

### ➤ Principe :

Antibiogramme est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique, obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé.

Il a été réalisé selon les recommandations de CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) (CA-SFM, 2019).

Elle permet de catégoriser une souche bactérienne en sensible (S) ou résistante (R), et d'orienter l'antibiothérapie.

### ➤ Technique :

- ✓ Réaliser une suspension à partir d'une culture bactérienne pure et jeune (de 24 h sur milieu gélosé), en ensemencant une colonie bien isolée dans 5 ml de l'eau physiologique, puis réaliser une dilution jusqu'à  $10^{-3}$  de façon à obtenir une concentration finale de 107 UFC/ml, (correspondant à une densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, soit une densité égale à 0,5 Mc Farland).
- ✓ Ensemencer les boîtes de Muller-Hinton par la suspension diluée à l'aide d'une écouvillon.
- ✓ Déposer les disques d'antibiotiques à la surface des géloses à l'aide d'une pince stérile.  
Les antibiotiques testés sont les suivants : Ticarcilline, Ticarcilline / Acide clavulanique, Pipéracilline, Tobramycine, Ceftazidime, Colistin sulfate, Imipénème
- ✓ Mettre les boîtes à incuber pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

### ➤ Résultat :

Les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés. L'interprétation en Sensible (S) ou Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par le CA-SFM (**Tableau 2 et 3**).

**Tableau 2.** Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Pseudomonas aeruginosa* (CA-SFM, 2019).

Familles d'antibiotiques	Antibiotique testé	Signe	Charge des disques (µg)	Diamètre critique (mm)	
				Sensible (S) ≥	Résistante (R) <
<b>β-lactamines</b>	Ticarcilline	TIC	75	18	18
	Ticarcilline+ac clavulanique	TCC	75-10	18	18
	Pipéracilline	PIP	30	18	18
	Ceftazidime	CAZ	10	17	17
	Imipénème	IMP	10	20	20
<b>Aminosides</b>	Tobramycine	TM	10	16	16

**Tableau 3.** Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Acinetobacter baumannii* (Richard et al, 2019)

Familles d'antibiotiques	Antibiotique testé	Signe	Charge des disques (µg)	Diamètre critique (mm)	
				Sensible (S) ≥	Résistante (R) <
<b>β-lactamines</b>	Ticarcilline	TIC	100/10	21	18
	Ticarcilline+ac clavulanique	TCC	75/10	20	15
	Pipéracilline	PIP	100	21	18
	Ceftazidime	CAZ	30	18	15
	Imipénème	IMP	10	24	21
<b>Aminosides</b>	Tobramycine	TM	10	17	17

## 9. Test Hodge Modifié (Nordmann et al., 2012):

### ➤ Principe :

Ce test permet la mise en évidence d'une enzyme hydrolysant l'imipénème chez une souche résistante à cet antibiotique à l'aide d'une souche sensible.

### ➤ Technique :

- ✓ Ensemencer par écouvillonnage une dilution au 1/10ème d'une suspension de densité égale à 0.5 Mc Farland de la souche *E. coli* ATCC 25922 sur une gélose Muller Hinton.
- ✓ Déposer un disque d'imipénème chargé à 10 µg au centre de la boîte.
- ✓ Ensemencer la boîte par la souche testée de manière radiale à partir du disque jusqu'au bord.
- ✓ Ensemencer de manière radiale un témoin négatif et un témoin positif sur la même boîte pour faciliter l'interprétation.
- ✓ Incubation pendant 18 h à 37°C

### ➤ Résultat :

La présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif.

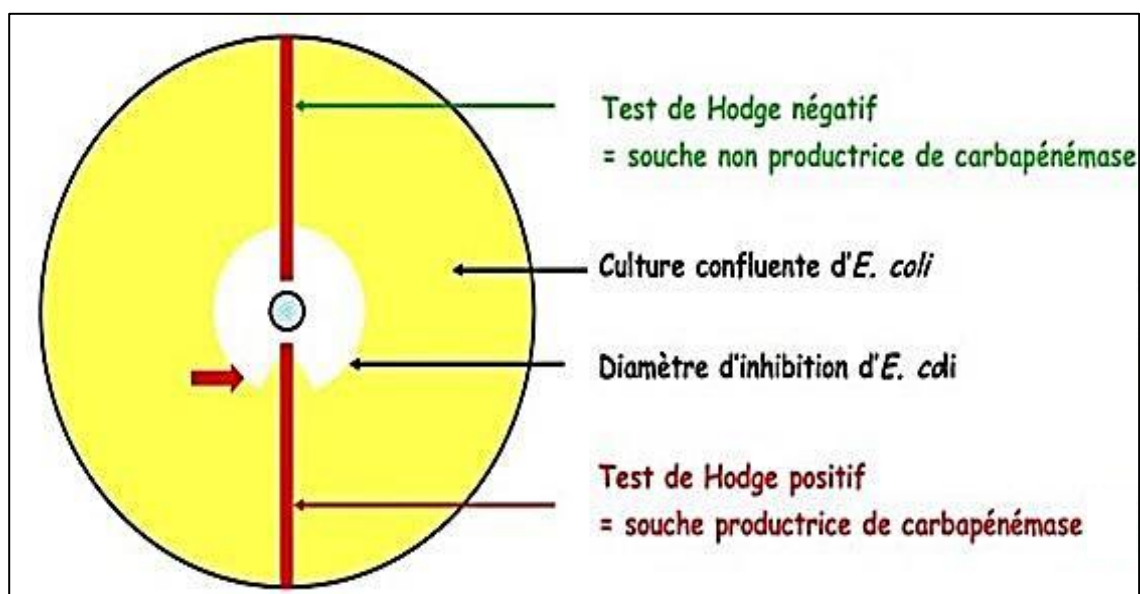


Figure 6. Principe du test Hodge Modifié (Jennifer, 2013).

**10. Test IMP-EDTA (Yong et al., 2002):**

➤ **Principe :**

Ce test permet de différencier les métallo- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ L) des autres  $\beta$ -lactamases hydrolysant les carbapénèmes.

➤ **Technique :**

- ✓ Ensemencer par écouvillonnage une dilution au 1/10ème d'une suspension de densité égale à 0.5 Mc Farland de la souche testé sur une gélose Muller Hinton.
- ✓ Déposer deux disques d'imipenème à deux centimètres d'intervalle auxquels on rajoute à l'un d'eux 4 $\mu$ l d'EDTA (solution 0.5M).
- ✓ Incubation pendant 18 h à 37°C.

➤ **Résultat :**

Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques sont mesurés et comparés. Si les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IPM-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IPM seul d'au moins 6mm, elles sont considérées comme souches productrices de MBL.



**Figure 7. Test IMP-EDTA (Arijit, 2014).**



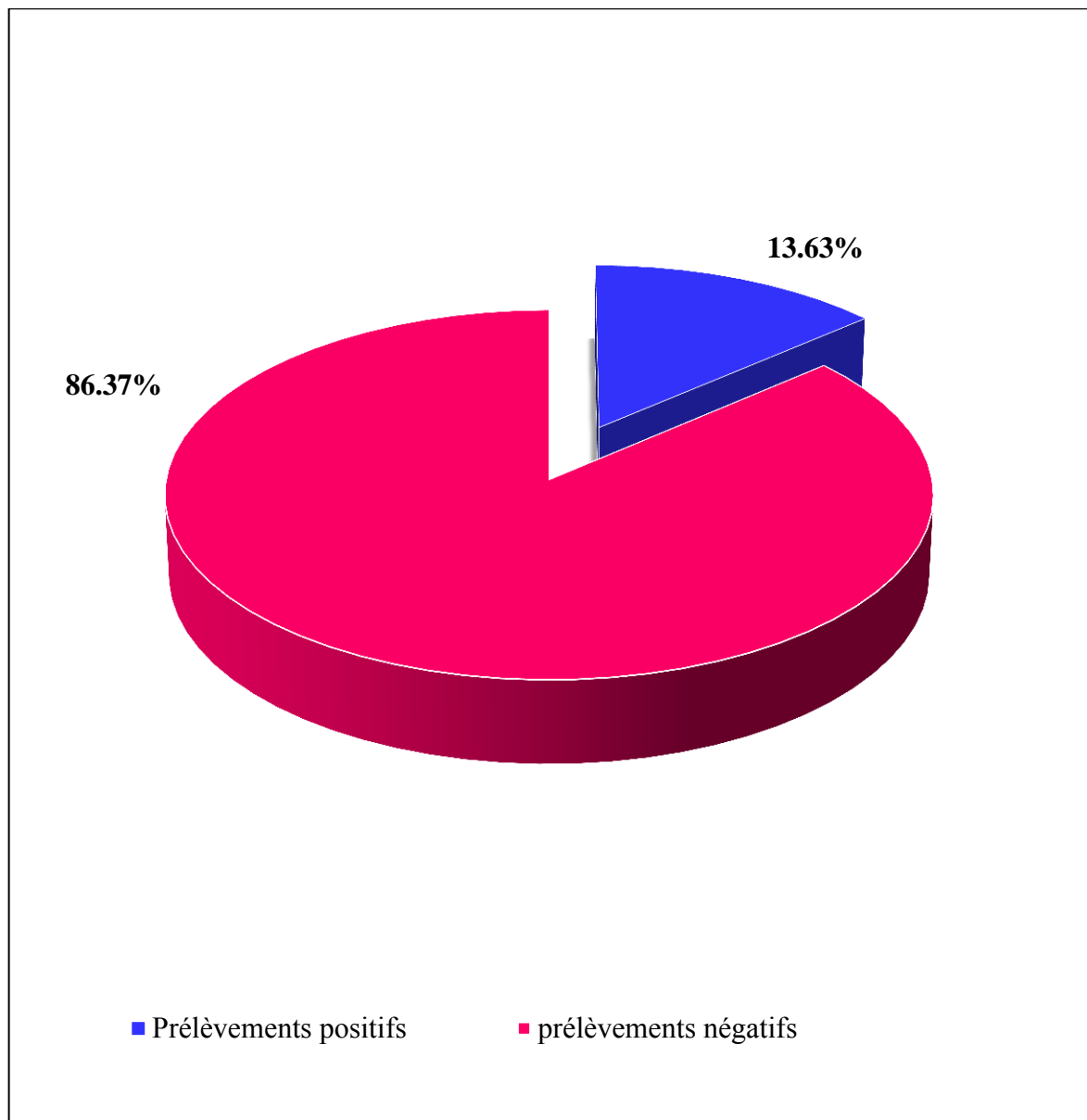
*Partie 3: Résultats et  
discussion*



I. Résultats :

1. Prélèvements :

Durant la période de notre étude, nous avons réalisé 22 prélèvements au niveau de service Maternité, dont 13.63% se sont révélés positifs (3 prélèvements), et 86.37% se sont montrés négatifs (19 prélèvements) (**Figure 8**).



**Figure 8.** Répartition des prélèvements selon la présence des BGNnfs.

2. Résultat d'identification des souches BGNnFs isolées :

2.1.Fréquence des souches isolées :

Sur un total de trois prélèvements positifs, trois souches ont été identifiées et isolées, où nous avons trouvé deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* (66.6%) et une souche de *Acinetobacter baumannii* (33.4%) (Figure 9).

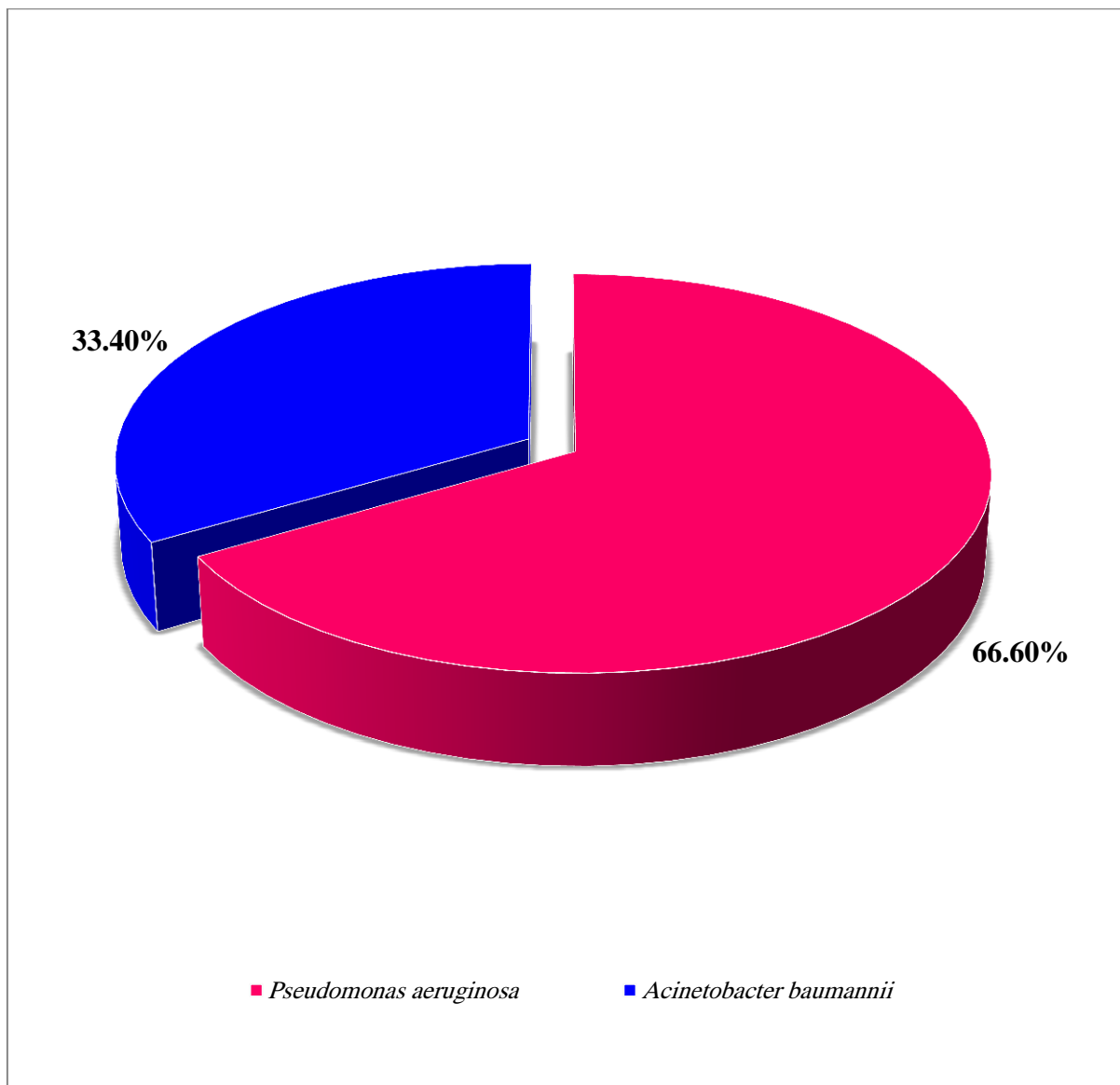


Figure 9. Répartition des BGNnFs isolées et identifiées à partir du service de maternité.

**2.2. Répartition des prélèvements positifs :**

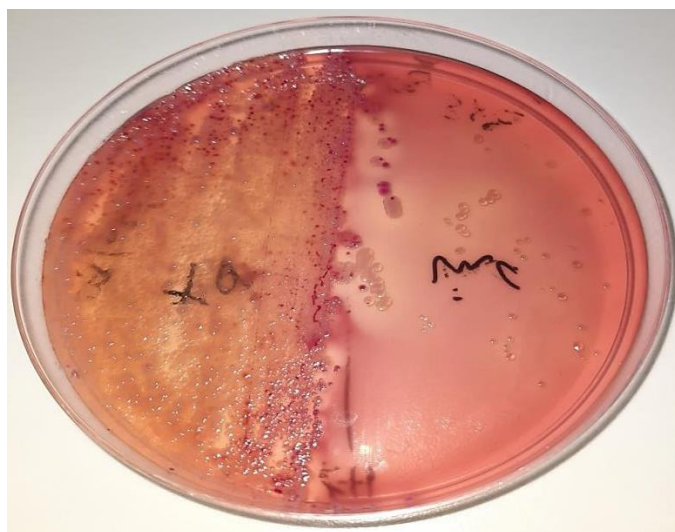
La répartition des bactéries isolées à partir du service de maternité selon la source du prélèvement est montrée dans le tableau ci-après :

**Tableau 4.** Répartition des souches selon la source de prélèvement.

Souches isolées	Source de prélèvement
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- Bacin (une souche) - Lavabo (une souche)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	- Poignée de port (une souche)

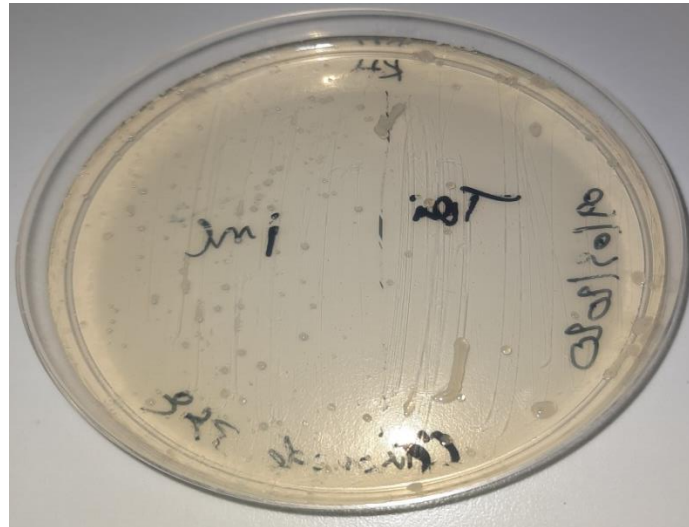
**2.3. Résultat d'identification des souches BGNnFs :**

- D'après l'observation macroscopique sur les boîtesensemencées, on distingue trois types de colonies :
  - ✚ Colonies incolores, rondes, petites, convexes et lisses, porte les caractères de *Pseudomonas aeruginosa* (Photo 8).
  - ✚ Colonie muqueuses de couleur blanche-grises, porte les caractères d'*Acinetobacter baumannii* (Photo 8).



**Photo 8.** Aspect des isolats bactériens sur milieu Mac Conkey.

- ✚ Colonies ne sont pas pigmentées, ils sont lisses, ronds porte les caractères de *Pseudomonas aeruginosa* (photo 9).



**Photo 9.** Aspect des isolats bactériens sur milieu Cétrimide.

- Après la coloration de Gram, les trois souches purifiées sont apparues sous forme de bacilles roses, isolés ou en diplobacilles.
- Sur l'ensemble de trois souches isolées, deux souches ont fait virer la couleur du réactif d'oxydase au violet ce qui montre qu'ils sont oxydase positif.
- Toutes les trois souches isolées sont catalase positive, qu'ils ont décomposé l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se traduit par le dégagement des bulles de gaz.
- Après la réalisation de la galerie API 20NE, les trois souches de BGNnFs ont des biotypes comme suivants :

**Tableau 5.** Biotypes des souches identifiées

Souche	Biotype
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1154575
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1354575
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0204042



**Photo 10.** *Pseudomonas aeruginosa* identifiée par Galerie API 20 NE, biotype 1154575

**NB :**

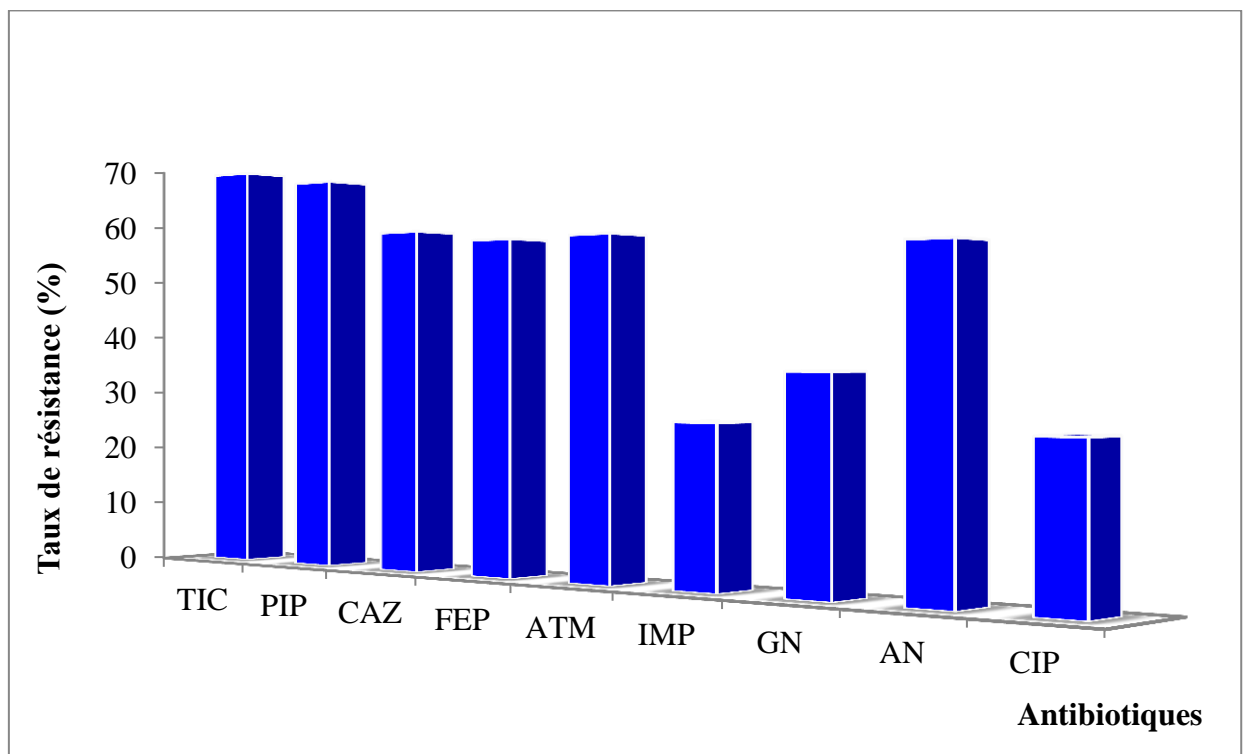
Nous n'avons pas complété l'essentiel de notre travail dans le laboratoire qui est l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées, en raison la décision du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique d'arrêter les études et l'annulation de la partie pratique suite au dissémination de la pandémie du Covid-19.

Pour cela, on a fait une synthèse des résultats de certaines études réalisées :

➤ **Etude de Mamdouh et Reddaf, 2018 :**

A partir des différents prélèvements (pus, urines, sonde...) provenant de malades hospitalisés dans les différents services du CHU de Constantine, 27067 bactéries ont été isolées dont 630 ont été des *P. aeruginosa* (2.33%).

Après la réalisation de l'antibiogramme, les souches de *P. aeruginosa* se sont révélées résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques testées, à part la Colistine, pour laquelle tous les isolats sont restés sensibles.



**Figure 10.** Taux de résistance aux antibiotiques chez *P.a* (Mamdouh et Reddaf, 2018).

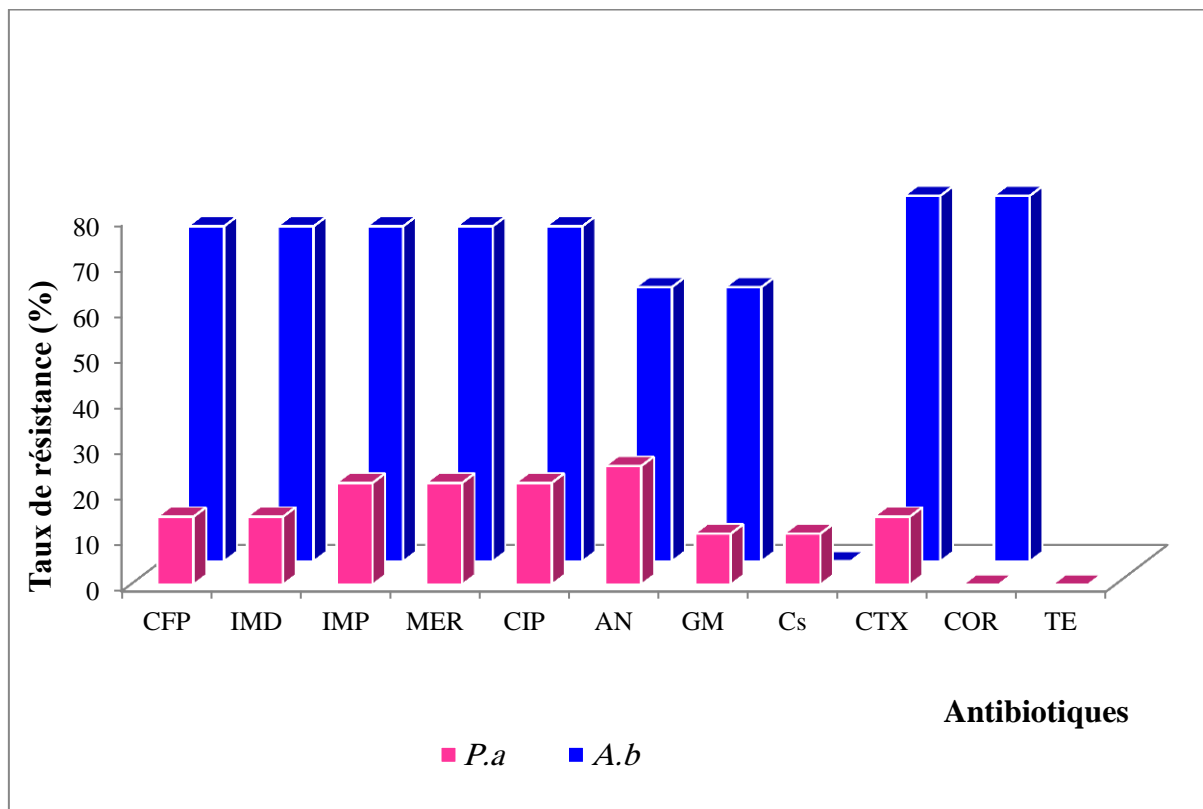
Pour les bêta-lactamines, les taux de résistance sont : 69.57% à la Ticarcilline, 67.09% à la Pipéracilline, 57.66% à la Ceftazidime et 55.92% à l'Aztréonam.

Les taux de résistance aux aminosides sont : 53.16% pour l'Amikacine et 34.16% pour la Gentamicine. Alors que le taux de résistance à la Ciprofloxacine est de 25.25% (**Figure 10**).

➤ **Etude de Seba et al, 2020 :**

Durant une période de trois mois, 83 prélèvements des sécrétions endotrachéales ont été effectués des patients de différents groupes d'âge admis dans les unités de soins intensifs en Inde. Les BGNnFs ont constituées 60,24% des isolats de *P. aeruginosa* (54%) suivi d'*A.baumannii* (30%).

Après la réalisation de l'antibiogramme, moins de 15% de *P.aeruginosa* ont été résistants aux céphalosporines de 3<sup>eme</sup> et 4<sup>eme</sup> générations, aux aminosides et à la Colistine, tandis que plus de 20% ont été résistants aux carbapénèmes et à la Ciprofloxacine.



**Figure 11.** Résistance aux antibiotiques de *P.aeruginosa* et *A.baumannii* (Seba et al, 2020).

Dans le cas d'*A. baumannii*, 60 à 70% ont été résistants aux carbapénèmes, aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> générations et à la ciprofloxacine et plus de 60% aux aminosides (Figure 11).

➤ Etude de Meliani et al, 2020 :

A partir de 900 prélèvements, 240 souches de BGNs responsables d'infections chez des patients hospitalisés dans les différents services (services de soins intensifs, services des brûlés, endocrinologie et urologie) de l'hôpital d'Annaba-Algérie ont été isolés.

Parmi elles, 60 souches (25%) ont montré une résistance à l'Imipénème. *P.aeruginosa* prédominait avec 39 souches (65%), suivi par *A. Baumannii* avec 21 souches (35%).

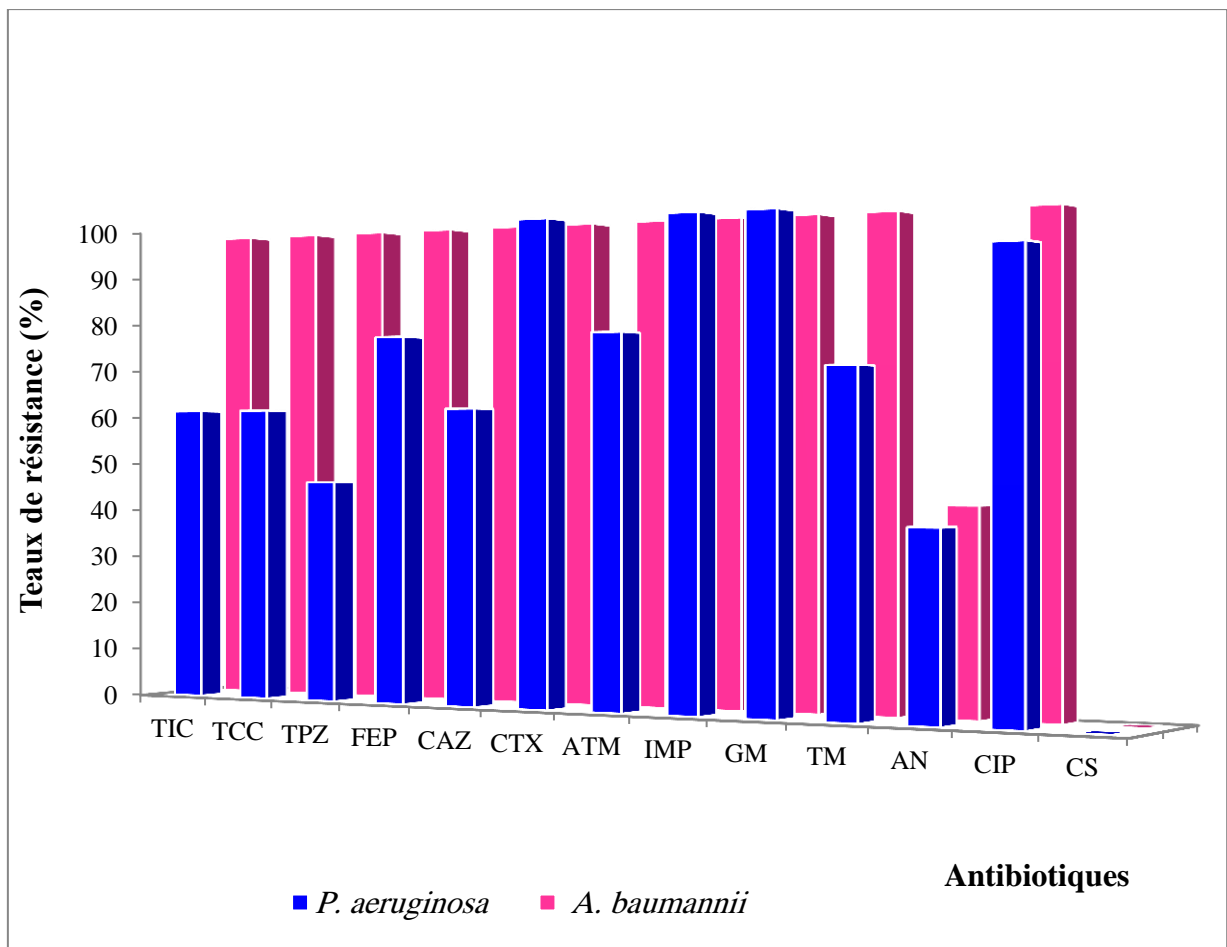


Figure 12. Sensibilité aux antibiotiques des *Pseudomonas aeruginosa* et *d'Acinetobacter baumannii* (Meliani et al., 2020).

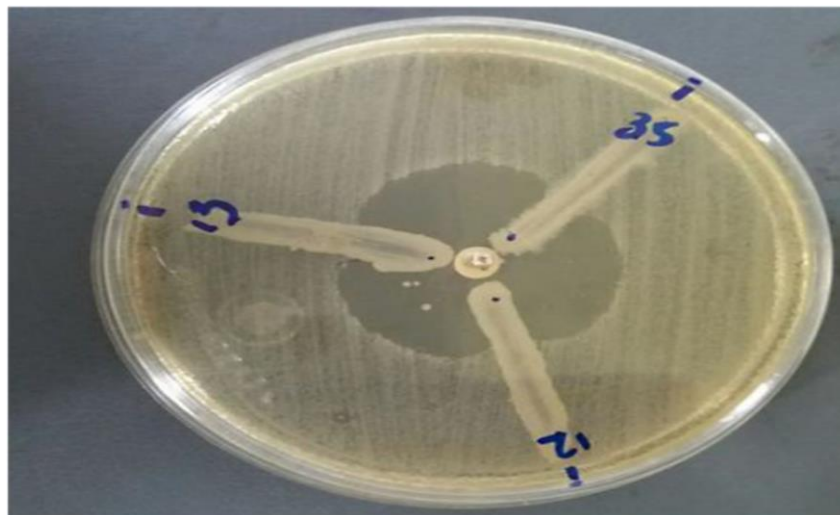
Toutes les souches d'*A. baumannii* sont totalement résistantes à la Ticarcilline, à la Ticarcilline/Acide clavulanique, à la Pipéracilline/Pazobactam, à l'Aztréonam, à la Ceftazidime, à la Céfépime, à la Céfotaxime, à la Gentamicine et à la Tobramycine (**Figure 12**), toutes ces souches ont produit des carbapénémases et seules 3 souches possèdent la BLM révélée par l'EDTA.

La situation est différente pour les souches de *P. aeruginosa*, qui ont présenté moins de résistance à la Ticarcilline, à la Ticarcilline/acide Clavulanique et à la Ceftazidime (61,5%), à la Pipéracilline/Tazobactam (46.2%), Céfépime et Aztréonam (76,92%) et Tobramycine (69,23%), et une résistance totale à la Céfotaxime et à la Gentamicine (100%) (**Figure 12**), et 12 souches (30,77%) ont produit des carbapénémases qui se sont révélées être des BLM. Tandis que la Colistine a inhibé toutes les souches isolées.

➤ **Etude de Moulana et al, 2020 :**

A partir des différents prélèvements, 50 isolats d'*A. baumannii* ont été collectés à partir de plusieurs unités des hôpitaux affiliés à l'université des sciences médicales de Babol.

Tous les isolats ont été résistants à tous les antibiotiques, la seule classe d'antibiotiques à laquelle les isolats étaient sensibles était le Sulfate de colistine (94%) et le Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (14%).



**Figure 13.** Résultat positif de test Hodge Modifié sur Muller Hinton (**Moulana et al., 2020**)

La production de carbapénémase a été confirmée par le test Hodge modifié pour 42 (84%) isolats d'*A. baumannii*. (Figure 13).

➤ Etude de Yanfeng et al., 2020 :

A partir des différents prélèvements, 62 isolats cliniques de *P. aeruginosa* ont été isolés à partir de patients admis dans différents services du premier hôpital affilié de la faculté de médecine de Baotou.

L'antibiogramme des isolats obtenus a montré une résistance à l'Imipénème et Méropénème, Pipracilline, Céfotazidime et Céfepime, cependant les taux de résistance à l'amikacine et à la tobramycine ont été très faibles (Figure 14).

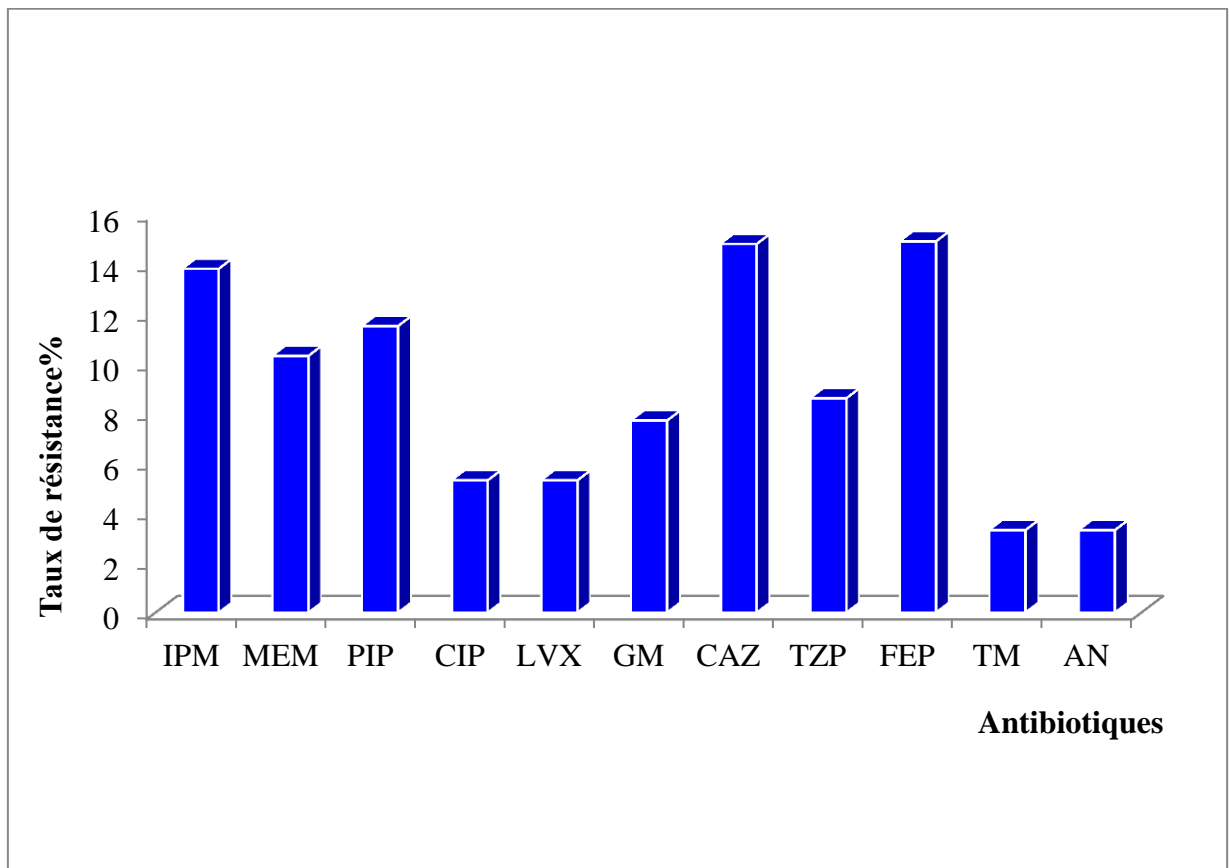
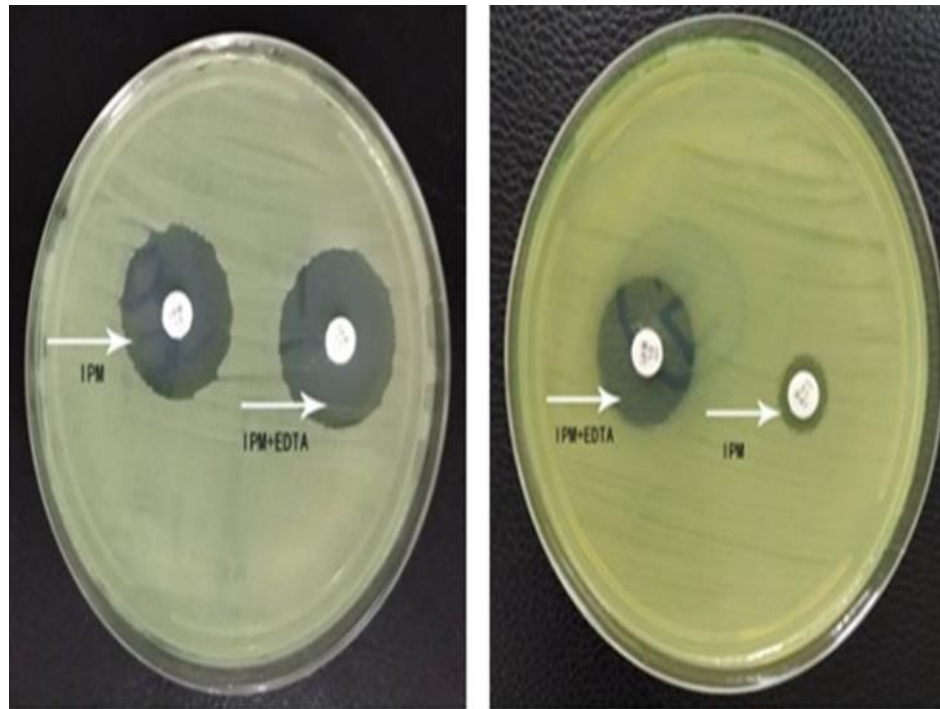


Figure 14. Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de *P. aeruginosa* (Yanfeng et al., 2020).

Parmi les 62 isolats de *P. aeruginosa*, 32 (51,6 %) isolats ont été identifiés comme produisant des MBL, par le test IPM-EDTA (**Figure 15**).



Souche de référence  
ATCC27853 de *P.a*

Souche clinique MBL de *P.a*  
(+)

**Figure 15.** Résultat de test IPM-EDTA (Yanfeng et al., 2020).

**II. Discussion :**

*P. aeruginosa* est un pathogène courant lors d'infections cliniques. Une enquête a montré qu'elle était l'agent pathogène le plus courant (17%) de l'infection par pneumonie nosocomiale acquise dans les hôpitaux. (Walter et al., 2018).

Ainsi que *Acinetobacter baumannii* a reçu une attention croissante ces dernières années en raison de leur potentiel à provoquer des infections graves et de leur capacité à développer rapidement une résistance aux antibiotiques. (Namiganda et al., 2019)

Au cours de la période de notre étude, le taux de nos prélèvements positifs effectués au niveau de service de Maternité à l'hôpital de Méchéria a été très faible (13.63%) par rapport les autre études (Meliani et al, 2020 ; Seba et al, 2020), à cause de la différence dans les nombres totaux des prélèvements, et la durée de l'étude.

Nous avons marqué une fréquence de *P. aeruginosa* (66.6%) élevées à celle d'*A. baumannii*, ces résultats sont en accord avec les études des plusieurs auteurs (Grewal et al., 2017 ; Meliani et al, 2020 ; Seba et al, 2020), en désaccordant Madhavi et Sunita (Madhavi et Sunita, 2019).

Yanfeng et al ont trouvé que les souches de *P. aeruginosa* proviennent essentiellement du service respiratoire suivi de Neurochirurgie (Yanfeng et al., 2020) cette étude est différente de celle de Memdouh et Reddaf qui ont constaté que ces souches sont isolées plus fréquemment dans le centre des brûlés et le services de Chirurgie viscérale. (Memdouh et Reddaf, 2018).

La situation est différente pour les souches d'*Acinetobacter baumannii* où Seba et al ont trouvé que le plus grand nombre de ces isolats a été trouvé chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs (USI). (Seba et al, 2020), Moulana et al ont également trouvé cette résultat. Mais Meliani et al ont marqué le nombre le plus élevé dans le service d'endocrinologie (Meliani et al., 2020).

Tandis que, notre étude a été réalisée seulement au niveau de service maternité.

Les caractères internationaux de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sur les mileux Mac Conkey et Cétrimide sont similaire à celles de nos isolats.

Après la coloration de Gram, les 3 souches purifiées sont apparues sous forme de bacilles roses, elles sont donc des bacilles à Gram négatif.

Nos résultats sont similaires à plusieurs études liées à *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Singlten, 2005 ; Bricha et al., 2009; Hélène, 2016).

Tous les isolats de notre étude ont été catalase positive, ils ont décomposé l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se traduit par le dégagement des bulles de gaz.

Cependant, seulement deux souches ont été oxydase positive, elles ont oxydé la NN-diméthyl-paraphénylène diamine en un dérivé rose violacé.

Ces résultats sont en concordance avec la littérature (Peleg et al., 2008 ; Touati, 2013). Il s'agit donc de colonies de *P. aeruginosa* ou *A. baumannii*.

Ainsi, les résultats obtenue par la Galerie API 20NE sont les mêmes que ceux rapportés dans la littérature (Dhayanithi, 2010 ; Nkang, 2009 ; Boudouda, 2015). Ce qui révèle et assure que la souche est *Pseudomonas aeruginosa*.

Les BGNnFs et surtout *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* multirésistants sont les principales causes des infections nosocomiales dans le monde. Ce sont les agents pathogènes prioritaires actuels de l'Organisation mondiale de la santé pour la résistance, la surveillance de la résistance aux antimicrobiens et la découverte de nouveaux antibiotiques. (Motbainor et al. 2020).

Outre ses résistances naturelles à de nombreux antibiotiques, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont caractérisés par ses capacités à acquérir de nouvelles résistances vis-à-vis de composés habituellement actifs, à cause de la grande diversité des plasmides de ces bactéries (Chastre, 2003).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* se sont révélées résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques testées. Dans les études récentes, ils ont été observé que les espèces *Pseudomonas aeruginosa* ont présenté une résistance maximale à l'Imipénème, Céfotaxime et Gentamicine (Meliani et al., 2020), tandis que dans autres études elles ont présenté moins de résistance à ces antibiotiques et à Ticarcilline, Pipéracilline, Ceftazidime, Céfépime Aztréonam, Amikacine, Ciprofloxacine/pefloxacine, Doripénème, Meropénème, et Cefoperazone/Sulbactam (Mamdouh et Reddof, 2018; Seba et al, 2020; Yanfeng et al., 2020).

Les études de Meliani et al et Mamdouh et Reddof ont trouvé que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à la colistine (Meliani et al., 2020 ; Mamdouh et

**Reddaf, 2018**). Ces études sont cohérentes avec l'étude de Madhavi et Sunita (**Madhavi et Sunita, 2019**) et s'opposent l'étude de Seba et *al* (**Seba et al, 2020**).

Toutes les souches de *A. baumannii* sont totalement résistantes à l'Imipénème, à la Ticarcilline, à la Ticarcilline/acide clavulanique, à la Pipéracilline/Tazobactam, à l'Aztréonam, à la Ceftazidime, à la Céfépime, à la Céfotaxime, à la Gentamicine et à la Tobramycine selon l'étude de Moulana et *al* (**Moulana et al, 2020**), alors que Seba et *al* ont observé une résistance partielle aux mêmes antibiotiques en plus aux Cefoperazone/Sulbactam, Doripénème, Meropénème, Ciprofloxacine, Amikacine et Ceftriaxone.

Ils ont observé aussi une sensibilité totale à la Colistine et Tigercycline (**Seba et al, 2020**). Ces résultats sont similaires à celles de Moulana et *al* mais ils ont constaté aussi une sensibilité à la Triméthoprim-sulfaméthoxazole (**Moulana et al, 2020**), Madhavi et Sunita ont également remarqué cette constatation (**Madhavi et Sunita, 2019**).

Il a été constaté que la résistance aux carbapénèmes a été due à l'imperméabilité des carbapénèmes par la perte de la porine OprD2 chez *P. aeruginosa* et CarO chez *A. baumannii* et à l'expression de l'enzyme carbapénémase (métallo ou oxa) (**Limansky, 2002; Livermore, 2002**).

Pour la résistance acquise à l'Imipénème, plusieurs mécanismes peuvent intervenir: la modification de la cible ou la modification de la barrière de perméabilité. Ce dernier mécanisme, implique soit la mise en place de pompes à efflux, soit une diminution du flux entrant d'antibiotiques par l'intermédiaire des porines (**Liasid, 2012**).

La Colistine est une option thérapeutique de dernier recours pour lutter contre ces souches. Cependant, ces dernières années, ils ont acquis une résistance croissante en plus de sa toxicité, ce qui conduit à de nombreux échecs thérapeutiques (**Ahmed et al., 2016**).

La résistance à la colistine est liée à des modifications de la composition du LPS des bactéries à gram-négatif. Ces modifications ont toutes comme conséquence de diminuer la charge négative du LPS, essentiellement via l'ajout de résidus chargés positivement, entraînant ainsi une diminution d'affinité de la colistine (elle-même chargée positivement) pour sa cible d'action. D'autres mécanismes de résistance plus rarement incriminés sont la synthèse d'une capsule externe (qui absorbe la colistine par trapping et empêche ainsi sa fixation sur le LPS)

ou la surexpression de certaines pompes à efflux (entraînant l'expulsion de l'antibiotique de la bactérie vers le milieu extra-cellulaire) (Youri, 2020).

Compte tenu de la résistance croissante aux carbapénèmes, plusieurs études mettent également en évidence des tests phénotypiques tels que le test Hodge modifié pour une détection de première ligne des isolats producteurs de carbapénémase.

La production de carbapénémase qui se sont révélées être des MBL chez *Pseudomonas aeruginosa* a été confirmée par le test Hodge modifié et le test IMP-EDTA dans plusieurs études (Meliani et al., 2020 ; Yanfeng et al., 2020).

Les résultats du THM présentés par Meliani et al et Moulana ont montré que la plupart des isolats d'*A. baumannii* ont été des producteurs de carbapénémase. Ces résultats sont étayés par plusieurs études qui ont montré que le THM est un test de dépistage utile pour la production de carbapénémase (AL-Harmoosh et Jarallah, 2015 ; Rar et Al-Jubori, 2017).

Le test de disque d'IMP-EDTA est l'un des méthodes les plus fiables pour la détection de la production de MBL, ce qui est montré dans l'étude de Meliani et al (Meliani et al., 2020).

La forte proportion de MDR observée dans les deux BGNnF est probablement liée aux contaminations et à la transmission croisée de ces bactéries de l'environnement hospitalier (Solomon et al., 2017).

Tous les isolats d'*A. Baumannii* et *P. aeruginosa* ont été résistants à au moins trois antibiotiques représentatifs de différentes classes. Par conséquent, une intervention urgente vers les pratiques de prévention des infections nosocomiales requises et le traitement des patients sous soins doivent être guidés par des tests de sensibilité aux antibiotiques.



# *Conclusion*



Au terme de ce travail, nous avons confirmé que la résistance aux antibiotiques est devenue un sujet prioritaire pour les autorités sanitaires au niveau mondial. En effet, depuis ces dernières années, nous avons assisté à une augmentation fulgurante de la résistance aux antibiotiques, en particulier chez les bacilles à Gram négatif non fermentants.

Notre étude a montré une prévalence significativement faible de BGNnFs, les plus courants étant *P. aeruginosa* et *A. baumannii*.

Et selon les études réalisées par d'autres auteurs, la plupart des isolats ont été résistants à tous les antibiotiques, y compris les carbapénèmes, mais ils ont resté sensibles à la colistine, dont certains isolats ont été des producteurs de carbapénémases qui se sont révélées être des métallo- $\beta$ -lactamases.

On peut déduire que le taux de la résistance des souches aux antibiotiques est relativement élevé ce qui implique que l'émergence de BMR en milieu hospitalier est devenu problème inquiétant. Ceci est favorisé par l'accumulation de divers mécanismes de résistance au sein des souches résistantes.

La détection et l'identification précoces de ces organismes résistants sont cruciales, car elles peuvent éclairer davantage leur prévalence et leur rôle pathogène.

Notre perspective est l'utilisation des tests moléculaires afin de rechercher les supports génétiques et le type de la résistance chez les BGNnFs.

L'avenir de la lutte contre les infections bactériennes, et en particulier celles causées par les BGNnFs, dépend essentiellement de la synergie des actions publiques et privées pour soutenir la recherche sur les solutions alternatives à l'antibiothérapie classique.

Ceci devrait être réalisé sans pour autant oublier de rappeler les principes de bon usage des antibiotiques car ils resteront encore pendant plusieurs années la première source de traitement contre la majorité des infections bactériennes

Une utilisation judicieuse des agents antimicrobiens disponibles, une surveillance régulière de la sensibilité aux antimicrobiens et des mesures strictes de contrôle des infections sont nécessaires pour contrôler cette résistance aux antibiotiques émergente entre les bacilles à Gram négatif non fermentatifs.



*Références  
bibliographiques*



**A**

- ✓ **ACHKOUR Z.** Emergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. Thèse de doctorat en Pharmacie, université Mohammed, Rabat, (2012) :59pp+ annexes.
- ✓ **ADAM E., MITCHELL B., SCHUMACHER D., GRANT G et SCHUMACHER U.** *Pseudomonas aeruginosa* II lectin stops human ciliary beating: therapeutic implications of fucose. *Am J Respir Crit Care Med*, 155,(1997): pp 2102-2104.
- ✓ **AHMED S., ALP E., HOPMAN J., VOSS A.** Globalepidemiology on colistin resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Infectious Diseases and Therapy*, 4, (2016):pp 1 –5.
- ✓ **AL-HARMOOSH A et JARALLAH E.** First detection of the bla<sub>oxa</sub>-23 genes in a clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Hillah hospitals-IRAQ. *J Pharm Biol Sci (IOSR-JPBS)* 10, (2015): pp 77–83.
- ✓ **ALLAIN P.** Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines. Les médicaments. 3ème édition, (2008).
- ✓ **ARIJIT B.** Incidence of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in central Nepal.7(1), (2014):pp 557
- ✓ **AVRIL J., DABERNAT H., DENIS F et MONTEIL H.** Bactériologie clinique. 3ème édition. Ellipses, Paris, (2000) : 602 p.
- ✓ **RMOUL A.** Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse de Doctorat en microbiologie appliqué, université Badji Mokhtar, Annaba, (2013) : 113pp + annexes.

**B**

- ✓ **BAGGE N., CIOFU O., HENTZER M., et al.** Constitutive high expression of chromosomal betalactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob Agents Chemother*, 46(2002): pp 3406-11.
- ✓ **BARIR O et GHILANI M.** « Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière ». Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire, Biskra: Université Mohamed khider-Biskra (2011).

- ✓ **BEN HAJ KHALIFA A., MOISSENET D., VU THIEN H., KHEDHER M.** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations Virulence. Annales de Biologie Clinique; 69 (4) (2011) : pp 393- 403.
- ✓ **BERGOGNE-BEREZIN E.** Treatment of *Acinetobacter* infections. Expert Opin Investig Drugs. 6,(1997): pp 27-119.
- ✓ **BERTHELOT P., GRATARD F., MALLAVAL F., et al.** Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. Ed Elsevier. Pathologie Biologie (2005) ; 53: pp341-348.
- ✓ **BOUDOUDA R.** « Caractérisations biochimique, microbiologique et mutagenèse de *Pseudomonas aeruginosa* ». Mémoire de master en Génétique Moléculaire, université des Frères Mentouri, Constantine, (2015).
- ✓ **BOUKHATEM L.** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. Memoire de master en microbiologie. Universite Aboubekr Belkaid Tlemcen. (2013): 65pp+annexe.
- ✓ **BOUVET P et JOLY-GUILLOU M.** *Acinetobacter*. In: Freney J., Renaud F., Leclercq R et Riegel P, editors. Précis Bactériologie Clin., Paris: Éd. Eska. (2007) : pp 959–77.
- ✓ **BRADFORD P.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21<sup>st</sup> century. Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microb Rev, 14(4) Oct (2001):pp 933-51.
- ✓ **BRICHA S., OUNINE S., OULKHEIR N ., EL HALOUI et ATTARASSI B.** Facteurs de virulence et epidemiologie lies au *Pseudomonas aeruginosa*. Revue Tunisienne d'Infectiologie. 2, (2009): pp 7- 1.
- ✓ **BRYSKIER A.** Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. Ed Ellipses, (1999): pp 747.
- ✓ **BRYSKIER A.** Classification of beta-lactams, Pathol Biol (Paris) 32, (1984): pp 658-67.

## C

- ✓ **CAMILLE B.** Epidemie a *Acinetobacter baumannii* multi résistant dans un service de réanimation polyvalente : évaluation par cas-témoins de l'impact de l'antibiothérapie. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de lorraine. (2014) : 64 pp + annexe.

- 
- ✓ **CANTON R., GONZALEZ J et GALAN J.** CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion, *Front Microbiol* ,3n,(2012);: pp 110-129.
  - ✓ **CAVALLO J., FABRE R., JEHL F., RAPP C et GARRABE E.** Bêtalactamines. EMC Maladies infectieuses. 1,(2004):pp 129-202.
  - ✓ **CHEMELLE J.** Etude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Thèse de doctorat, université De Lyon, (2010) : 190 pp+ annexes.
  - ✓ **CHENIKA S.** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles a gram negatif non fermentaires isolés dans le service de neurochirurgie du CHU de tlemcen. Memoire De Master En Microbiologie. Université Aboubkr belkaid Tlemcen. (2013) : 53pp+annexe.
  - ✓ **CHO Y., MOON D., JIN J., CHOI C., LEE Y et LEE J.** Genetic basis of resistance to aminoglycosides in *Acinetobacter* spp. and spread of armA in *Acinetobacter baumannii* sequence group 1 in Korean hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 64,(2009): pp 90-185.
  - ✓ **CHOI C., LEE E., LEE Y., PARK T., KIM H., HYUN S et al.** Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol.* 7,(2005): pp 38-1127.
  - ✓ **CHRISTIAN B.** Elaboration et évaluation de chémoliposomes à action bactéricide anti-*Pseudomonas aeruginosa* chez un modèle animal d'infection chronique. Thèse de doctorat en Biophysique, université du Québec, (1995) : 96pp+annexes.
  - ✓ **CONLY J., PITOUT J., DALTON B et SABUTA D.** La NDM-1 : summum de la résistance aux antimicrobiens. Centre de collaboration nationale des maladies infectieuses. (2011): pp 1-31.
  - ✓ **COYNE S., COURVALIN P et PÉRICHON B.** Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 55, (2011): pp 53-947.

## **D**

- ✓ **DECRE D.** *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques: un modèle d'adaptation. *Rev Francoph Lab.* 42 ,(2012): pp 43-52.
- ✓ **DHAYANITHI N., AJITH KUMAR T et KATHIRESAN K.** Effect of neem extract against the bacteria isolated from marine fish. *Journal of Environmental Biology.* 31, (2010): pp 409-412.

- ✓ **DIJKSHOORN L., NEMEC A et SEIFERT H.** An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol.* 5,(2007): pp 51-939.
- ✓ **DIOP R.** Standardisation et optimisation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. Thèse Pharmacie, Dakar, (2001) : 75pp+ annexe.
- ✓ **DOI Y, ARAKAWA Y.** 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 45(1), Jul (2007) :pp 88-9
- ✓ **DORTET L., LEGRAND P., SOUSSY C et CATTOIR V.** Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, two frequently misidentified opportunistic pathogens. *J Clin Microbiol.* 44,(2006) : pp 4471-8.
- ✓ **DROUSSI S.** La consommation des antibiotiques en service de réanimation de l'hôpital militaire moulay ismail de meknès. Thèse de doctorat en médecine. Université de Med Ben Abdellah-Meknès. (2020) :94pp + annexe.

## **E**

- ✓ **EL SALABI A., WALSH T., CHOUCHANI C.** Extended spectrum  $\beta$ -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria, *Crit Rev Microbiol* 39,(2013): pp 113-122.
- ✓ **ELMESKINI K.** « Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* ». Thèse de doctorat : pharmacie, Rabat: Université Mohammed v Souissi, (2011).
- ✓ **ELROUINI A.** émergence de la résistance aux carbapénames chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Med V de Rabat. (2018) :pp 139 + annexe.
- ✓ **EVANS D., PIER G., COYNE M et GOLDBERG J.** 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. *Mol Microbiol*, Aug, 13(3),(1994):pp 427-34.
- ✓ **EYQUEM A., ALOUF J et AND L.** Montagnier, Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments, (2000).

F

- ✓ **FAURE S.** Les quinolones et les fluoroquinolones. Actualités pharmaceutiques. 447 ,(2008) : pp 41-43.
- ✓ **FAURE S.** Transfert d'un gène de résistance aux  $\beta$ -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. Thèse de doctorat, (2009) : 32pp+annexes.
- ✓ **FERNANDEZ-CUENCA F, MARTINEZ-MARTINEZ L, CONEJO M et al.** Relationship between betalactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother. 51,(2003): pp 74-565.
- ✓ **FICK R et SQUIER S.** Pathogenetic mechanisms in lung diseases caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Chest 95 (3), (1989): pp 206-213.
- ✓ **FLANDROIS J.** Bactériologie Médicale. Presses universitaires de Lyon, 1997, 309p.
- ✓ Fournier P et Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis. 42 ,(2006): pp 9-692.
- ✓ **FOX G., BARTHOLD S., DAVISSON T et al.** The mouse in biomedical research. Academic Press, London, (2006): pp 281-282.

G

- ✓ **GELLEN-DAUTREMER J.** Bactériémie à *Pseudomonas aeruginosa* en médecine intern : revue rétrospective de 51 épisodes. Thèse de doctorat en médecine Paris, (2007).
- ✓ **GOLDBERG J., HATANO., MELULENI G., PIER G.** Clonong and surface expression of *Pseudomonas aeruginosa* O antigen in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad A 89(22) ,(1992): pp 10716-12.
- ✓ **GREWAL U., BAKSHI R et WALIA G et SHAH P.** Antibiotic susceptibility profiles of non-fermenting gram-negative Bacilli at a Tertiary Care Hospital in Patiala, India. Niger Postgrad Med J; 24,(2017): pp 121-5.
- ✓ **GUILLAUME P.** Les milieux de culture en microbiologie. 2004.

H

- ✓ **HANDCOCK R et CAREY A.** Outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*: heat-and 2-mercaptoethanol-modifiable proteins. J. Bacteriol; 140 (3) ,(1979): pp 902-910.
- ✓ **HANDCOCK R.** The *Pseudomonas aeruginosa*: outer membrane permeability barrier and how to overcome it. Antibiot. Chemother (36), (1985): pp95-102.
- ✓ **HANDCOCK R.** Intrinsic antibiotic resistance on *Pseudomonas aeruginosa*. 1. Antimicrob. Agents. Chemother, 18,(1984): pp 653-659.
- ✓ **HELENE P.** Réservoirs extra-hospitaliers et non-humains d'*Acinetobacter baumannii* sur l'île de la Réunion. Thèse de doctorat en bactériologie. Université Bretagne Loire. (2016) : 161p.
- ✓ **HERVE B.** Développement et validation de tests de détection rapide de la résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat en Biochimie et biologie structurale. Université Paris-Saclay, (2017) :164pp+annexes.
- ✓ **HINCKY-VITRAT V.** Les céphalosporines de 3ième et 4ième générations. Service de Maladies infectieuses et Tropicales, CHU Grenoble, (2008): pp 14.

I

- ✓ **JAWAD A., SEIFERT H., SNELLING A., HERITAGE J et HAWKEY P.** Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. J Clin Microbiol. 36,(1998): pp 41-1938.
- ✓ **JENNIFER R.** La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes. Etude prospective aux Hôpitaux Civils de Colmar du dépistage avec un milieu sélectif et intérêt de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le criblage. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Strasbourg, (2013) :160pp.

K

- ✓ **KONG K., SCHNEPER L et MATHEE K.** Beta-lactam antibiotics: From antibiosis to resistance and bacteriology, *APMIS*; 118(1) (2010): pp1-36. *EMS Microbiol Rev*; 35,(2010): pp736-755.

---

L

- ✓ **LAMBERT N.** Antibiothérapie en pratique clinique. Edition : Bergogne-Berezin P. Dellamonica, (1995) : pp 33-35.
- ✓ **LAROUCHE G.** Les quinolones: des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. Pharmacothérapie théorique. Pharmactuel, 4(2), (2013): pp 40.
- ✓ **LAURENT C., RODRIGUEZ-VILLALOBOS H., ROST F., STRALE H., VINCENT J., DEPLANO A., STRUELENS M et BYL B.** Intensive care unit outbreak of extended-spectrum betalactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* controlled by cohorting patients and reinforcing infection control measures. Infect Control Hosp Epidemiol; 29(2008): pp 517-524.
- ✓ **LAURETTI L., RICCIO M., MAZZARIOL A., et al.** Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother ;43(1999):pp 1584-90.
- ✓ **LECLERC H., GAILLARD J et SIMONET M.** Microbiologie générale : La bactérie et le monde bactérien. DOIN Paris. (1995) : pp 517.
- ✓ **LEE J., CHOI C., KIM J et LEE J.** *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A induces dendritic cell death through mitochondrial targeting. J Microbiol Seoul Korea. 48 (2010): pp 92-387.
- ✓ **LEE K., YONG D., YUM J., LIM Y., BOLMSTRÖM A., QWÄRNSTRÖM A., KARLSSON A et CHONG Y.** Evaluation of Etest MBL for detection of blaIMP-1 and blaVIM-2 allele-positive clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol.43(2), (2005):pp 942-4.
- ✓ **LIAZID A.** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Memoire de magister en Maitrise de la qualité microbiologique et du développement microbien. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. 82 (2012): pp+annexe.
- ✓ **LIMANSKY A., MUSSI M et VIALE A.** Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. J Clin Microbiol.40 (2002): pp 8-4776.
- ✓ **LIVERMORE D.** Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? Clin Infect Dis (34), (2002): pp 634-40.

- ✓ **LIVERMORE D.** Of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. *J Antimicrob Chemother* 47(3) (2001): pp 247-50.
- ✓ **LONGO F., VUOTTO C et DONELLI G.** Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol.*37 (2014): pp 27-119.
- ✓ **LOZNIEWSKI A., RABAUD C et NANCY.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Infections associées aux soins .CCLIN Sud-Est.* (2010).

## M

- ✓ **MADKEY M et GAJBHIYE S.** Study of Non-Fermentative Gram Negative Bacilli. *International Journal of Biomedical and Advance Research*; 10(5), 2019: pp 5189.
- ✓ **MARILYSE V.** Résistance Aux -Lactamines À Large Spectre Chez Les Bactéries À Gram Négatif. Thèse de Maître ès sciences (M.Sc.) en Maîtrise en microbiologie-immunologie. Université Laval, Québec Canada, (2015) : 101pp+annexes.
- ✓ **MARTY N.** Mode d'action des principaux antibiotiques utilisés chez le brûlé. *Brulures.* Vol 1. Ed. Carr. Méd, (2000).
- ✓ **MCDERMOTT P., WALKER R et WHITE D.** Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *International journal of toxicology*, 22(2), (2003): pp 135-143.
- ✓ **MEHDI S.** La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan ii de Settat .Thèse pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed faculté de médecine et de pharmacie Rabat. (2008) :51pp+ annexe.
- ✓ **MELIANI S., TOUMI S., DJAHOUDI H., DEGHDEGH KH., KAMEL A et DJAHOUDI A.** Synergistic combination of colistin with imipenem, amikacin or ciprofloxacin against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem-resistant isolated in Annaba hospital Algeria. *Biocell* 44(2), (2020): pp 175-182.
- ✓ **MEMDOUH S et REDDAF N.** Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Thèse de Master en Microbiologie et Hygiène Hospitalière, Université Frères Mentouri Constantine 1 .(2018) : 60pp+ annexes
- ✓ **MERENS A et AURELIE S.** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *La résistance aux anti-infectieux. Revue francophone des laboratoires*, 422, (2010): pp 33-41.

- ✓ **MICHAEL M.** Science Source. « Find art america [en ligne] ». Find art america. 2016. Disponible sur: <https://fineartamerica.com/featured/1-mdr-pathogen-pseudomonas-aeruginosa-science-source.html>. 2016.
- ✓ **MOTBAINOR H., FETLEWORK B et WONDEMAGEGN M.** Multi-drug resistance of blood stream, urinary tract and surgical site nosocomial infections of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* among patients hospitalized at Felegehiwot referral hospital, Northwest Ethiopia: a crosssectional study. *BMC Infectious Diseases*, 20(92), (2020).
- ✓ **MOULANA Z., AREFEH B., ESLAMDOST Z., SHOKRI M et EBRAHIMPOUR S.** Phenotypic and genotypic detection of metallo-beta-lactamases in Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *Caspian Journal of Internal Medicine* 11(2), (2020):pp171–176.
- ✓ **MOULIN M et COQUEREL A.** *Pharmacologie*. Ed Masson, (2002): pp 1165.

## N

- ✓ **NAMIGANDA V., MINA Y., MEKLAT A., TOUATI D., BOURAS N., BARAKATE M et SABAOU N.** Antibiotic resistance pattern of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from different clinical specimens and their sensibility against bioactive molecules produced by Actinobacteria. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 44 (2019): pp 6267–6275.
- ✓ **NAUCIEL C et VILDE J.** *Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action* Edition : Masson, Paris, (2005): pp 49-56.
- ✓ **NAUCIEL C.** *Bactériologie médicale*. Ed ellipses, (2000) : pp 56.
- ✓ **NIU C., CLEMMER K., BONOMO R et RATHER P.** Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol.*190, (2008): pp 92-3386.
- ✓ **NKANG A., OKONKO O., FOWOTADE A., UDEZE A., OGUNNUSI T., FAJOB I E., et al.** Antibiotics susceptibility profiles of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. *J. Bacteriol. Res.*1 (8), (2009): pp 89-96.
- ✓ **NORDMANN P et GUIBERT M.** Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*, 42, (1998): pp128-31.

- ✓ **NORDMANN P., GNIADKOWSKI M., GISKE G., POIREL L., WOODFORD N et MIRIAGOU V.** Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infection*. (2012): pp 432– 438.
- ✓ **NORDMANN P., POIREL L., RODRIGUEZ M., JOSÉM K et PLÉSIAT P.** Naturally Occurring Class A  $\beta$ -Lactamases from the *Burkholderia cepacia* Complex. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(3), (2009) : pp876–882.

**P**

- ✓ **PAGE C., CURTIS J et SUTTER C.** Pharmacologie intégrée (1999) : pp 491.
- ✓ **PAI H., KIM J., KIM J., et al.** Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 45(2), (2001): pp 480-4.
- ✓ **PALLERONI N et Genus I.** *Pseudomonas*. 2 ed.: BRENNER (D.J.), KRIEG (N.R.), STALEY (J.T.) et GARRITY (G.M.), (1894).
- ✓ **PELEG A., SEIFERT H et PATERSON D.** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 21, (2008): pp 82-538.
- ✓ **PHILIPPON A et ARLET G.** Bêta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork. *Ann Biol Clin (Paris)*. 64, (2006): pp 37-51.
- ✓ **PIEDNOIR E., THIBON P., BORDERAN G., GODDE F., BORGEY F., LE COUTOUR X et PARIENTI J.** Long-term clinical and economic benefits associated with the management of a nosocomial outbreak resulting from extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumonia*, *Crit Care Med*.39, (2011): pp 2672-2677.
- ✓ **PIRNAY J., BILOCQ F et al.** *Pseudomonas aeruginosa* population structure revisited. *PLoS ONE* 4, (2009).
- ✓ **POIREL L.** Nouveaux mécanismes de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* : quelles perspectives. XVIIe Congrès nationale de la SFHH-Nantes. (2006) : pp 25.
- ✓ **POOLE K.** Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*, (10) ,(2004): pp 12-26.
- ✓ **POUNEH K .** Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Paul Sabatier de Toulouse II, (2009) : pp 298+ annexes.
- ✓ **POURRIAT J et MARTIN C.** Principe de réanimation chirurgicale. Edition ARNETTE, (2005) : pp 298.

## Q

- ✓ **QUALE J., BRATU S., GUPTA J et LANDMAN D.** Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*;50(2006): pp1633-41

## R

- ✓ **RAR A et AL-JUBORI S.** Molecular analysis of genetic elements responsible for xdr in highly successful pathogen *acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples of Iraqi patients. *J Global Pharm Technol*, 9, (2017):pp 26–39.
- ✓ **RICHARD C ET KEREDJIAN M.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif. *Inst. Pasteur*, 2ème éd. 1995 : pp 22-6
- ✓ **RICHARD C et KEREDJIAN M.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobie stricts : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. *Inst Pasteur*, 2e édition. 2, (1995) : pp22-26.
- ✓ **RICHARD S.** Les Patatines de *Pseudomonas aeruginosa* : Sécrétées ou non Sécrétées? Telle est la question.... Thèse de doctorat en Microbiologie moléculaire et Biotechnologies. Université de la Méditerranée de Luminy, (2010) : 142pp +annexes.
- ✓ **RICHARD S.** Génomique fonctionnelle in vivo de l'oxydoréductase PA 3498 chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Maitrise en microbiologie-immunologie*, (2005).
- ✓ **ROSSIGNOL G.** Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens* : Activité hémolytique et variation phénotypique. Thèse de doctorat. (2007) : 7pp+ annexes.
- ✓ **RUIMY R et ANDREMONT A.** Quorum-sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*: mécanisme moléculaire, impact clinique, et inhibition. *Reanimation*. 13, (2004: pp 176–184.
- ✓ **RUPPE E.** Epidémiologie des bêta lactamase-à spèctre élargie : l'avènement des CTX-M. *Infections bactériennes-Antibiotiques*. 12 (1) ,(2010) :pp5.
- ✓ **SANSCHAGRIN F, BEJAOUI N et LEVESQUE R.** Structure of CARB-4 and AER-1 carbenicillinhydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 42, (1998): pp 1966-72.

S

- ✓ **SEBA M., CHITHRA J et ANNA M.** Isolation, Identification and Antibiotic Susceptibility Testing of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from Endotracheal Secretions in a Tertiary Care Centre. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 9(2), (2020) : pp 2319-7706.
- ✓ **SIBYLLE B.** Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. (Essai d'intervention contrôlé). Thèse de doctorat en sciences de la Vie et de la Santé. Université Henri Poincare (2011) :135pp + annexe
- ✓ **SINGLTEN P.** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. DUNOD, Paris. (2005) : pp 490.
- ✓ **SOLOMON F., WADILO F., TUFA E et MITIKU M.** Extended spectrum and metallo beta-lactamase producing airborne *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in restricted settings of a referral hospital: a neglected condition. Antimicrob Resist Infect Control, 6, (2017):pp 106.
- ✓ **SOPHIE B.** *Pseudomonas aeruginosa: une virulence complexe.* Revue Francophone des Laboratoires,435, (2011): pp 73-81.
- ✓ **SOUSSY C.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. (2007) pp: 21-46.
- ✓ **SU X., CHEN J., MIZUSHIMA T., KURODA T et TSUCHIYA T.** Coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob Agents Chemother.49, (2005): pp 4-4362.

T

- ✓ **TOMARAS A., DORSEY C., EDELMANN R et ACTIS L.** Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. Microbiol Read Engl. 149, (2003): pp 84-3473.

- ✓ **TOUATI M.** Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation- CHU Annaba. Thèse de Doctorat en microbiologie appliqué. Université Badji Mokhtar-Annaba. (2013): 137pp+annexe.
- ✓ **TOURE F.** Résistance aux bêta-lactamines de souches bactérienne isolées d'hémoculture au CHU, le Dantec. Thèse pour de doctorat en pharmacie. Université de le Dantec, (2004). 40pp +annexes.
- ✓ **TOWNER K.** *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. J Hosp Infect. 73,(2009): pp 63-355.
- ✓ **Turton J., Ward M., Woodford N et al.** The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett. 258 ,(2006): pp 7-72.

V

- ✓ **VERON M.** Biologie de *Pseudomonas aeruginosa*. Médecine et maladies infectieuses. 13(6), (1983) : pp352-356
- ✓ **VIDAL R., DOMINGUEZ M., URRUTIA H., BELLO H., GONZALEZ G., GARCIA A et al.** Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii*. Microbios. 86, (1996): pp 49–58.
- ✓ **VOGNE C., AIRES J., BAILLY C., HOCUET D., PLESIAT P.** Role of the multidrug efflux system MexXY in the emergence of moderate resistance to aminoglycosides among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patient with cystic fibrosis. Antimicrobial Agent Chemother. 48,(2004): pp 1797-802.
- ✓ **VORA S et AUCKENTHALER R.** [What is the significance of extended spectrum betalactamases in clinical practice?]. Rev Med Suisse.5, (2009): pp 1991-4.

W

- ✓ **WALTER J., HALLER S., QUINTEN C., et al.** Healthcare-associated pneumonia in acute care hospitals in European Union/European Economic Area countries: an analysis of data from a point prevalence survey, 2011 to 2012. Euro Surveill.23(32), (2018):pp1700843.

- ✓ **WICK M., FRANK G., STOREY D., IGLEWSKI B.** Structure, function, and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Annu Rev Microbiol.* 44, (1990): pp335-363
- ✓ **WISPLINGHOFF H., BISCHOFF T., TALLENT S., SEIFERT H., WENZEL R et EDMOND M.** Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 39, (2004): 17-309.
- ✓ **WOLFF M., JOLY-GUILLOU M., PAJOT O.** Les carbapénèmes. Comparative review of carbapenemes, *Reanimation*, (18), (2009): pp 199-208.
- ✓ **WOODFORD N., TURTON F et LIVERMORE M.** Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance, *FEMS Microbiol Rev* (2011); 35: pp736-755.
- ✓ **WRIGHT G.** Aminoglycoside-modifying enzymes. *Curr Opin Microbiol.* 2(5), (1999):pp 499-503

## γ

- ✓ **YALA D., MERAD A., MOHAMEDDI D et OOARKORICH N.** Classification et mode D'action des antibiotiques. Ed Médecine, Maghreb (91), (2001) : pp 6 -12.
- ✓ **YANFENG X., HAIYING N., TONGPING H., LIXIA Z., SHANNA S., HUIJIE H., HUIMIN W ET DONG Z.** High Expression of Metallo-β-Lactamase Contributed to the Resistance to Carbapenem in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Baotou, China. *Infection and Drug Resistance* 13, (2020): pp 35–43.
- ✓ **YONEYAMA H ET KATSUMATA R.** Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 70 (5), (2006): pp 1060.
- ✓ **YONG D., LEE K., YUM J., et al.** Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 40, (2002) : pp 3798-801.
- ✓ **YOURI G.** Résistance à la colistine chez les bactéries à gram-négatif. *noso info.*24 (1), (2020).

Z

- ✓ **ZAHAR J., BILLE E., SCHNELL D., et al.** Extension of beta-lactamases producing bacteria is a worldwide concern. *Med Sci, Paris.* 25, (2009): pp 939-44.
- ✓ **ZHANEL G., JOHANSON C., EMBIL J., et al.** Ertapenem: review of a new carbapenem. *Expert Rev Anti Infect.* (3), (2005): pp 23-39.



# *Annexes*



**Annexe 1. Matériels utilisés.****+ Appareillages :**

- Plaque chauffante
- Vortex
- Autoclave.
- Réfrigérateur.
- Microscope optique.
- Étuve.
- Bec Bunsen.

**+ Verreries :**

- Flacons stériles.
- Boîtes pétri.
- Anse de platine.
- Pipettes pasteur.
- Pipettes graduées
- Tubes à essais.
- Erlenmeyers
- Bêchers
- Burettes

**+ Milieu de culture :**

- Gélose nutritive.
- Gélose Mueller Hinton.
- Cétrimide.
- Bouillon cœur cerveau.

**+ Antibiotiques :****Photo 12. Antibiotiques à tester.**

## Annexe 2. Compositions des milieux de culture utilisés.

<b>Gélose nutritive :</b>	<b>Gélose Mueller-Hinton :</b>
Extrait de viande.....1 g	Hydrolysat acide de caséine (peptone) .....17.5 g
Extrait de levure.....2.5 g	Extrait de viande .....2 g
Peptone.....5 g	Amidon.....1.5 g
Chlorure de sodium.....5 g	Calcium.....20 à 25 mg
Agar .....15 g	Magnésium .....10 à 12.5 mg
Eau distillée.....1 L	Agar.....15 g
PH.....7	Eau distillée .....1 L
	PH.....7,4 +/- 0,2
<b>Cétrimide :</b>	<b>Bouillon coeur cervelle (BCC) :</b>
Peptone de gélatine .....16 g	Peptone.....10 g
Peptone de caséine .....10 g	Extrait de cervelle.....12.5 g
Cétrimide .....0.2 g	Extrait de cœur .....5 g
Acide nalidixique .....15 mg	Chlorure de sodium.....5 g
Sulfate de potassium .....10 g	Hydrogénophosphate disodique anhydre.....2.5 g
Chlorure de magnésium.....1.4 g	Glucose .....2 g
Agar .....4 g	Eau distillée.....1 L
L'eau distillée.....990ml	PH.....7.4+/-0.2
Glycérole.....10 ml	
pH .....7.1	

**Annexe 3.** Tableau de lecture de la Galerie API 20 NE (Boukhatem, 2013).

Test	Substrat	Réactions/enzymes	Résultat	
			Négatif	Positif
NO <sub>3</sub>	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT1+NTI2/5min	
			incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrates en azote	Zn / 5mn	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	James/ immédiate	
			Incolore vert pâle/jaune	Rose
GLU	Glucose	Fermentation	Bleu vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse ( $\beta$ -glucosidase)	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse (protéase)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitrophénil- $\beta$ -Dgalactopyranoside	$\beta$ -galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	assimilation	transparence	Trouble
ARA	Arabinose	assimilation	transparence	Trouble
MNE	Mannose	assimilation	transparence	Trouble
MAN	Mannitol	assimilation	transparence	Trouble
NAG	N-acétyl- glucosamine	assimilation	transparence	Trouble
MAL	Maltose	assimilation	transparence	Trouble
GNT	Gluconate	assimilation	transparence	Trouble
CAP	Caprate	assimilation	transparence	Trouble
ADI	Adipate	assimilation	transparence	Trouble
MLT	Malate	assimilation	transparence	Trouble
CIT	Citrate	assimilation	transparence	Trouble
PAC	Phényl-acétate	assimilation	transparence	Trouble

Annexe 4. Tableau de l'identification (API 20 NE).

API 20 NE	V7.0	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLUa	ARAa	MNEa	MANa	NAGa	MALa	GNTa	CAPa	ADLa	MLTa	CITa	PACa	OX
<i>Achromobacter denitrificans</i>		93	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	86	20	96	99	94	93	100
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>		81	0	0	1	0	0	1	0	99	0	30	1	1	1	100	81	94	99	98	96	100
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>		2	0	8	0	1	1	1	0	67	70	1	1	1	1	20	98	80	100	99	87	0
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>		1	0	14	0	0	0	96	0	1	0	0	0	0	0	99	2	99	81	1	0	0
<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>		1	0	0	0	1	0	0	0	24	8	2	0	0	0	99	4	95	70	0	0	0
<i>Acinetobacter lwoffii</i>		3	0	0	0	2	0	0	0	11	1	0	1	1	0	0	70	20	46	1	36	0
<i>Acinetobacter radioresistens</i>		2	2	0	2	0	0	0	0	19	2	0	0	2	0	0	97	100	2	2	97	0
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>		99	89	99	78	1	89	97	98	99	80	78	99	99	99	95	84	1	99	37	1	99
<i>Aer. salm. ssp masoucida/achromogenes</i>		100	21	9	0	0	2	33	0	66	0	33	50	2	21	2	0	0	2	0	0	100
<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>		100	0	57	36	0	100	99	18	84	1	0	96	84	99	99	0	1	99	1	0	100
<i>Aeromonas sobria</i>		100	86	96	86	0	1	99	99	100	12	99	99	99	100	100	93	0	99	81	0	100
<i>Alcaligenes faecalis 1</i>		1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	3	77	7	100	97	97	98
<i>Alcaligenes faecalis 2</i>		78	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	99	73	91	100	69	73	100
<i>Bergeyella zoohelcum</i>		0	0	0	0	99	0	74	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	99
<i>Bordetella avium</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	99	100	100	100	95
<i>Bordetella bronchiseptica</i>		76	0	0	0	96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	94	85	91	80	100	100
<i>Brevundimonas diminuta/Oligella urethralis</i>		1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	2	1	99	33	0	0	100
<i>Brevundimonas vesicularis</i>		16	0	0	0	0	98	12	34	72	1	1	3	10	72	1	1	1	40	0	0	98
<i>Burkholderia cepacia</i>		39	0	24	1	1	46	70	72	100	75	99	96	99	8	97	99	93	100	99	99	91
<i>Burkholderia pseudomallei</i>		100	0	0	98	0	5	100	0	100	0	99	100	100	0	100	100	99	100	99	94	100
<i>Chromobacterium violaceum</i>		97	1	99	100	0	0	100	0	100	0	66	10	97	0	100	75	0	100	36	0	97
<i>Chryseobacterium indologenes</i>		20	81	1	0	70	98	99	22	55	12	37	1	0	66	1	0	1	1	12	12	99
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		0	83	1	0	5	99	95	93	86	1	80	76	70	61	0	0	1	0	25	0	99
<i>Comamonas testosteroni/Ps. alcaligenes</i>		75	0	0	6	4	0	4	1	11	3	3	4	1	2	42	55	38	87	32	3	98
<i>Delftia acidovorans</i>		96	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	76	0	0	99	71	89	99	28	83	100
<i>Grimontia hollisae</i>		100	100	31	0	0	0	0	3	10	67	68	0	24	1	41	0	0	94	0	0	100
<i>Mannheimia haemolytica / Pasteurella trehalosi</i>		95	0	2	0	0	2	0	85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>		21	0	0	0	76	0	0	0	21	40	0	0	1	0	7	0	5	75	8	0	99
<i>Moraxella lacunata</i>		90	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	99
<i>Moraxella spp</i>		34	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	17	1	0	1	1	99
<i>Myroides spp</i>		0	1	0	0	94	1	99	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	100
<i>Ochrobactrum anthropi</i>		80	0	0	0	84	1	0	1	82	75	60	20	75	76	34	34	4	99	47	1	99
<i>Oligella ureolytica</i>		71	0	0	0	99	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	95	95	26	96	96
<i>Pasteurella aerogenes</i>		100	0	97	0	100	0	0	100	99	75	97	1	80	99	97	0	0	95	0	0	77
<i>Pasteurella multocida</i>		96	96	1	0	0	0	10	1	0	2	1	1	2	1	0	1	1	0	0	0	86
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		100	61	26	0	85	0	0	83	6	1	6	0	6	3	6	0	1	6	0	0	84
<i>Pasteurella spp</i>		96	1	2	2	1	1	1	4	19	1	1	1	1	1	1	0	1	13	1	0	87
<i>Photobacterium damsela</i>		99	0	94	99	99	2	0	11	11	0	6	0	1	6	0	0	0	63	0	0	100
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		99	99	98	98	0	0	0	86	94	0	12	0	77	98	99	77	0	94	0	0	99
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		96	0	0	80	20	1	92	1	99	1	1	89	84	1	97	98	91	98	99	1	98
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		27	0	0	80	1	1	39	1	99	71	97	89	85	1	99	99	10	99	99	16	99
<i>Pseudomonas luteola</i>		78	0	13	71	1	100	30	98	99	99	99	88	12	76	85	62	1	94	94	1	2
<i>Pseudomonas mendocina</i>		100	0	0	94	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	99	100	0	100	100	0	100
<i>Pseudomonas oryzae/habitans</i>		0	0	0	0	1	0	11	1	100	99	99	100	0	84	99	88	2	99	99	0	1
<i>Pseudomonas putida</i>		3	0	1	88	1	0	0	1	99	56	57	5	2	1	97	99	1	100	99	58	99
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		94	0	0	1	1	0	1	0	98	1	10	67	0	75	87	87	1	99	85	1	100
<i>Psychrobacter phenylpyruvicus</i>		60	0	0	0	95	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	0	100
<i>Ralstonia pickettii</i>		32	0	1	1	3	0	1	0	96	35	1	10	14	0	99	86	62	99	98	16	99
<i>Rhizobium radiobacter</i>		98	0	0	0	65	99	1	99	100	100	100	100	99	99	90	2	0	100	0	1	99
<i>Shewanella putrefaciens group</i>		96	0	1	0	1	71	95	0	6	11	0	0	95	10	1	71	1	90	2	0	100
<i>Sphingobacterium multivorum</i>		0	0	1	0	95	100	1	99	99	91	99	0	99	99	0	0	0	1	0	0	99
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>		0	0	0	0	1	100	0	100	100	1	99	10	100	100	0	0	0	0	0	0	99
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>		10	0	0	0	1	97	1	90	99	83	75	15	64	95	34	9	3	61	45	1	73
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		37	1	0	0	0	99	99	87	84	3	95	2	98	99	2	1	0	99	98	0	7
<i>Vibrio alginolyticus</i>		98	93	93	0	0	65	91	10	76	1	18	75	57	74	76	1	0	99	1	0	99
<i>Vibrio cholerae</i>		99	100	99	0	0	1	99	99	88	0	30	78	75	97	98	1	0	99	97	1	100
<i>Vibrio metschnikovii</i>		0	50	64	0	0	7	100	50	100	0	71	99	99	99	99	17	0	99	50	0	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		99	99	100	1	6	1	98	97	90	81	82	99	51	98	90	0	1	99	21	1	99
<i>Vibrio vulnificus</i>		100	95	95	0	1	95	99	99	9	0	10	9	1	6	28	0	0	95	91	0	100
<i>Wautersia paucula</i>		1	0	0	0	23	0	1	0	1	1	0	1	0	1	89	89	86	99	96	14	98
<i>Weeksellia virosa/Empedobacter brevis</i>		12	5	0	0	0	1	100	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	3	1	0	98

## Annexe 5. Tableaux de taux de résistance aux antibiotiques.

Tableau 1. Taux de résistance aux antibiotiques (Mamdouh et Reddaf, 2018).

Antibiotique	Nombre de souches Testées	Nombre de souches Résistantes	Taux de résistance (%)
Ticarcilline	620	432	69.57
Pipéracilline	906	414	67.09
Ceftazidime	600	346	57.66
Céfépime	575	321	55.73
Aztréonam	608	340	55.92
Imipénème	590	155	26.27
Gentamicine	600	205	34.16
Amikacine	600	319	53.16
Ciprofloxacine	590	149	25.25

Tableau 2. Résistance aux antibiotiques de *P.aeruginosa* et *A.baumannii* (Seba et al, 2020)

Antibiotiques	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (%)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (%)
Ceftazidime	14.81%	NA
Cefoperazone/Sulbactam	14.81%	73.33%
Doripenem	22.22%	73.33%
Imipénème	22.22%	73.33%
Meropénème	22.22%	73.33%
Ciprofloxacine	25.92%	73.33%
Amikacine	11.11%	60%
Gentamicine	11.11%	60%
Colistine	14.81%	00%
Cefotaxime	NA	80%
Ceftriaxone	NA	80%
Tigecycline	NA	00%

**Tableau 3.** Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de *P. aeruginosa* (Yanfeng et al., 2020).

<b>Antibiotiques</b>	<b>Taux de résistance de <i>P. a</i> (%)</b>
<b>Imipénème (IPM)</b>	13.8
<b>Meropénème (MEM)</b>	10.3
<b>Piperacilline (PIP)</b>	11.5
<b>Ciprofloxacine (CIP)</b>	5.3
<b>Levofloxacine (LVX)</b>	5.3
<b>Gentamicine (GM)</b>	7.7
<b>Ceftazidime (CAZ)</b>	14.8
<b>Piperacilline/Tazobactam (TZP)</b>	8.6
<b>Cefepime (FEP)</b>	14.9
<b>Tobramycine (TM)</b>	3.3
<b>Amikacine (AN)</b>	3.3