

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique

Université SAAD DAHLAB Blida -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

**LABORATOIRE DE RECHERCHE : BIOTECHNOLOGIE, ENVIRONNEMENT ET
SANTÉ**

Mémoire de Fin d'Etudes Pour l'obtention du diplôme de Master

Option : Microbiologie

Thème :

**Isolement, identification et étude de profil de résistance
d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de
l'hôpital de Boufarik**

Soutenu le : 14/07/2019

Réalisé et présenté par :

Mr. BOUTEKFA Yacine

Mr. RABHI Sami

Devant le jury :

Mme CHELGHOUM H.	MCB	Université de Blida 1	Présidente
Mme DEBIB A.	MCA	Université de Tipaza	Examinatrice
Mme HAMAIDI F.	MCA	Université de Blida 1	Promotrice
Mme BOULESNAM L.	Doctorante	Université de Blida 1	Co-promotrice

Promotion 2018-2019

Remerciements

En tout premier lieu, on remercie le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Nos gratitudes s'adressent à l'ensemble des membres du jury :

On exprime toute notre reconnaissance à Mme Chelghoum pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire.

Mme Debib examinatrice Pour l'intérêt qu'elle a accordé à ce travail en acceptant de l'examiner et de le juger. Qu'elle trouve ici le témoignage de nos respectueuses gratitudes.

On remercie Mme Hamaidi promotrice ainsi que Mme Boulesnam Co-promotrice pour leur encadrement, leur orientation, leurs conseils et leur disponibilité qu'elles ont témoigné pour nous permettre de mener à bien ce travail.

Ce travail a été réalisé à l'hôpital de Boufarik au niveau des services (néonatalogie, d'accouchement et bloc opératoire) ainsi que le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

Nos vifs remerciements aux chefs de services qui nous ont permis l'accès aux services pour faire les prélèvements

Mr Djamel Tefahi, pour nous avoir accordé l'accès au laboratoire d'hygiène, ainsi que d'être toujours disponible au moindre problème et au moindre besoin, et de nous avoir conseillé et diriger quand il fallait.

On remercie notre famille pour leur soutien morale, et de nous avoir encouragé à continuer le travail

A la fin nous tenons à remercier tous nos collègues d'étude, particulièrement notre promotion.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

On dédie ce modeste travail, fruit de nos études

A

Nos très chers et adorables parents qui nous ont soutenus jusqu'à la fin de nos études, qui nous ont aidés et entourer d'amour avec fierté.

Nos frères et sœurs qui nous ont toujours encouragé et aider dans tous Nos recherches de notre parcours avec beaucoup de dévouement de tendresse et surtout d'amour et d'affection, qui ont toujours éclairé nos chemins.

Nos neveux et nièces.

Toute notre famille.

Nos amies et collègues.

Toute la promotion de microbiologie.

BOUTEKFA Yacine et RABHI Sami

Liste des Tableaux

Tableau I : Nomenclature actuelle du genre <i>Acinetobacter</i>	3
Tableau II : Mécanismes de résistances d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques	10
Tableau III : Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
Tableau IV : Zone à risque infectieux à L'hôpital	19
Tableau V : Nombre de prélèvements selon les sites	21
Tableau VI : Liste des antibiotiques testés sur <i>Acinetobacter baumannii</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
Tableau VII : Résultats d'identification d' <i>Acinetobacter baumannii</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
Tableau VIII : Résultats de la galerie classique chez <i>Acinetobacter baumannii</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Tableau IX : Lecture de la galerie Api 20e d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	41
Tableau X : Répartition des bactéries isolées selon les services	44

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux β -lactamines	10
Figure 2 : Différentes étapes d'identification bactérienne	23
Figure 3 : Répartition des résultats des différents prélèvements effectués	34
Figure 4 : Répartition des résultats selon les sites de prélèvements	35
Figure 5 : Répartition des bactéries isolées selon les services	36
Figure 6 : Répartition des résultats selon les bactéries isolées	42
Figure 7 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
Figure 8 : Antibiorésistances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
Figure 9 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez deux souches moyennement Sensible d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	48
Figure 10 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez deux souches Moyennement résistant d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	48
Figure 11 : Antibiorésistances d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	49
Figure 12 : Résultats de test de synergie (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	51
Figure 13 : Résultats de test de synergie (<i>Acinetobacter baumannii</i>)	51

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribose nucléique
ADH : Arginine dihydrolase
Amp : Ampicilline
ATB : Antibiotique
ATCC: American Type Culture Collection
API : Analytical profile index
AZ : Aztréonam
Bla : β -lactamase
BLSE : Bêta-lactamases à spectre étendu
BGT : Bouillon glucosé tamponné
BGN : Bactéries à Gram négatif
BGNnF : Bactéries à Gram négatif non fermentant
CAZ : Céftazidime
CMI : Concentration minimale inhibitrice
C1G : Céphalosporine de 1ere génération
C2G : Céphalosporine de 2 éme génération
C3G : Céphalosporine de 3 éme génération
CIP : Ciprofloxacine
CL : Colistine
CIT : Citrate
EDTA : Éthylène diamine tétra acétique
Gyr : Gyrase
GEL : Gélatinase
GN : Gentamicine
H₂S : Hydrogène sulfuré
ISU : infection du système urinaire
IMP : Imipénème
IAS : Infections associés aux soins
IN : infection nosocomiale

LPS : Lipopolysaccharide

LDC : Lysine décarboxylase.

mm : Millimètre

NH₃ : Ammoniac

NR : Nitrate réductase

OMP : Outer *Membrane Protein*

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG : L'orthonitrophényl-β-galactoside (ou 2-nitrophényl-β-D-galactopyrannoside)

OXA : Oxacilline

PLP : protéine liant pénicilline

PSE : Pseudomonas Specific enzyme

RecA : *Recombinant protein* expression in *Escherichia coli*

RM : Rouge de méthyl

Sec : seconde

TEM : Temoniera

TCC : Ticarcilline + acide calvulanique

VP : *Voges-Proskauer*

Résumé

Les infections nosocomiales posent un véritable problème de santé publique du fait de leur fréquence, leur gravité et leur coût socioéconomique.

280 échantillons ont été prélevés de l'environnement hospitalier de l'hôpital de Boufarik durant une période allant du mois de février 2019 jusqu'au mois de mai 2019.

Les résultats ont montré un taux de positivité de 37,14% répartis comme suit : 63,46% au niveau de service de néonatalogie, 19,23% au niveau de service d'accouchement et 17,31% au niveau de bloc opératoire. Ces pourcentages sont alarmants surtout lorsqu'il s'agit d'un bloc opératoire et d'une salle de réanimation qui devraient être normalement stériles afin d'éviter toute sorte de contamination bactérienne des patients hospitalisés.

72 souches ont été isolées de l'environnement de l'hôpital, dont 8 sont des *Pseudomonas aeruginosa* avec un taux de 11,11% et 4 sont des *Acinetobacter baumannii* avec un taux 5,56%.

L'étude de profil de résistance aux antibiotiques a montré que les souches *Pseudomonas aeruginosa* expriment une sensibilité vis-à-vis de tous les antibiotiques testés (AZ, CAZ, CL, CIP, IMP, GN) et une faible résistance à la TCC. Tandis, que les souches d'*Acinetobacter baumannii* expriment des résistances moyennes vis-à-vis de certains antibiotiques (IMP, GN, CIP, CAZ) et une faible sensibilité à la TCC pour 2 souches, parmi les *Acinetobacter baumannii*, 2 souches sont résistantes à l'Imipénème dont la production de carbapénémase est négative.

Le test de détection de BLSE a permis de mettre en évidence que les huit (08) souches de *Pseudomonas aeruginosa* et les deux (02) souches d'*Acinetobacter baumannii* sont productrices de BLSE.

De tels résultats devraient alors être discutées et utilisée en vue d'orienter d'éventuelles mesures de prévention. Des phases de surveillance sont à envisager dans les années à venir en vue de suivre l'évolution du phénomène infectieux nosocomial dans ces différents services de cet Etablissement Hospitalier.

Mots clés : Service Hôpital Boufarik, environnement hospitalier, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, résistance aux antibiotiques.

Abstract

Nosocomial infections are a real public health problem because of their frequency, severity and socio-economic cost.

280 samples taken from the hospital environment (Boufarik hospital) during a period from February 2019 to May 2019 was undertaken.

The results showed a positivity rate of 37.14% distributed as follows: 63.46% at the neonatology service level, 19.23% at the maternity service level and 17.31% at the operating theater level. These percentages are quite significant because an operating room and a resuscitation room are normally sterile to avoid any kind of bacterial contamination of patients hospitalized.

72 strains were isolated from the hospital environment, of which eight (8) are *Pseudomonas aeruginosa* with a rate of 11.11% and four (4) are *Acinetobacter baumannii* with a rate of 5.56%.

The antibiotic resistance profile study showed that *Pseudomonas aeruginosa* strains express sensitivity to all antibiotics tested (AZ, CAZ, CL, CIP, IMP, GN) and low resistance to TCC, while *Acinetobacter baumannii* strains express moderate resistance to some antibiotics (IMP, GN CIP, CAZ) and low sensitivity to TCC for 2 strains. Among the *Acinetobacter baumannii*, 2 strains are resistant to Imipenem with negative carbapenemase production.

The ESBL detection test revealed that the eight (08) strains of *Pseudomonas aeruginosa* and the two (02) strains of *Acinetobacter baumannii* are producing ESBL.

Such results should then be discussed and used to guide possible preventive measures. Surveillance phases are to be envisaged in the coming years in order to follow the evolution of the nosocomial infectious phenomenon in these different services of this Hospital Establishment.

Key words: Hospital service Boufarik, Hospital environment, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance.

ملخص

تشكل الإصابات التي تحدث في المستشفيات مشكلة حقيقية في الصحة العامة بسبب تواترها وشدها وتكلفتها الاجتماعية الاقتصادية.

280 عينة مأخوذة من بيئة مستشفى (مستشفى بوفاريك) خلال الفترة من فبراير 2019 إلى مايو 2019. أظهرت النتائج معدل إيجابي قدره 37,14٪ موزعة على النحو التالي: 63,46٪ على مستوى قسم حديثي الولادة، 19,23٪ على مستوى قسم الولادة و17,31٪ على مستوى غرفة العمليات. هذه النسب مهمة إلى حد كبير لأن غرفة العمليات وغرفة الإنعاش عادة ما تكون معقمة لتجنب أي نوع من التلوث الجرثومي للمرضى الذين يدخلون المستشفى.

تم عزل 72 سلالة من بيئة المستشفى، منها 8 أنواع من *Pseudomonas aeruginosa* بمعدل 11,11٪ و4 هي *Acinetobacter baumannii* بمعدل 5,56٪.

أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية أن سلالات *Pseudomonas aeruginosa* تظهر حساسية لجميع المضادات الحيوية التي تم اختبارها (AZ, CAZ, CL, CIP, IMP, GN) ومقاومة منخفضة للـ TCC، في حين أن سلالات *Acinetobacter baumannii* تظهر مقاومة متوسطة لبعض المضادات الحيوية (IMP، GN، CIP، CAZ) وقابلية منخفضة للـ TCC لسلاسلتين. من بين سلالات *Acinetobacter baumannii* أظهرت سلالتين مقاومة للامبيبيديم حيث إنتاج الكاربابينيماز كان سالبًا.

أظهر اختبار الكشف عن البيتا-لاكتاماز ذات الطيف الموسعة (BLSE) أن السلالات الثمانية (08) ليكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والسلالتين (02) من *Acinetobacter baumannii* تنتج البيتا-لاكتاماز ذات الطيف الموسعة (BLSE).

ينبغي مناقشة هذه النتائج واستخدامها لتوجيه التدابير الوقائية الممكنة. من المزمع وضع مراحل للمراقبة في السنوات القادمة لمتابعة تطور الظاهرة المعدية للمستشفيات في هذه الخدمات المختلفة لمؤسسة المستشفى هذه.

الكلمات المفتاحية: أقسام مستشفى بوفاريك، البيئة الاستشفائية، *Acinetobacter baumannii*، *Pseudomonas aeruginosa*، مقاومة المضادات الحيوية.

Table des matières

	Pages
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Introduction	1

Partie 1 : Rappels bibliographiques

<i>I. Acinetobacter baumannii</i>	
I.1. Classification d' <i>Acinetobacter</i>	3
I.2. Habitat et pouvoir pathogène	3
I.3. Caractéristique bactériologique	4
I.3.1. Morphologie et structure	4
I.3.2. Caractère culturaux	4
I.3.3. Caractère antigénique	5
I.3.4. Caractères biochimiques	5
I.4. Persistance dans le milieu hospitalier	5
I.5. Infections liées à <i>Acinetobacter baumannii</i>	6
I.6. Résistance aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	6
I.6.1. Type de résistance	6
I.6.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques	7
I.6.3. Supports génétiques de la résistance aux antibiotiques	7
I.6.4. Mécanisme biochimique de la résistance aux antibiotiques	8

II. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
II.1. Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
II.2. Habitat et pouvoir pathogène	11
II.3. Caractéristiques bactériologiques	12
II.3.1. Caractères morphologiques	12
II.3.2. Caractères biochimiques et métaboliques	12
II.3.3. Caractères cultureux	13
II.3.4. Caractères antigéniques	13
II.4. Infections liées à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
II.5. Résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
II.5.1. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques	14
II.5.1.1. Résistance naturelle	14
II.5.1.2. Résistances acquises	15
III. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER	
III.1. Zone de risque à l'hôpital	19
III.2. Surface d'environnement hospitalier et Survie des micro-organismes	20

Partie 2 : partie expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel	21
❖ Matériel biologique	21
❖ Matériel non biologique	21
I.2. Méthodes	21
I.1.1. Type des prélèvements	21
I.1.2. Méthode de prélèvements	22
I.1.3. Examen macroscopique	24
I.1.4. Etat frais	24
I.1.5. Isolement et purification	24
I.1.6. Coloration de Gram	25
I.1.7. Tests biochimiques	25

I.1.7.1. Galerie classique	25
 Test d'oxydase	25
 Test de catalase	26
 Gélose TSI (Triple Sugar Iron)	26
 Citrate de Simmons	27
 Bouillon Clark et Lubs	27
 Urée Tryptophane ou Urée Indole	28
 Mannitol Mobilité	28
 LDC /ODC et ADH	28
 ONPG (Ortho-Nitro-Phenyl pyrano- Galactoside)	29
 Nitrate réductase	29
I.1.7.2. Galerie Miniaturisé (api 20E)	30
I.1.8. Antibiogramme	30
I.1.8.1. Antibiogramme par diffusion des disques	31
I.1.8.2. Test de synergie	32
I.1.8.3. Test de Hodge	33
II. RESULTATS ET DISCUSSION	
II.1. Répartition des résultats des différents prélèvements effectués	34
II.2. Répartition des résultats selon les sites de prélèvements	35
II.3. Répartition des bactéries isolées selon les services	36
II.4. Résultats de l'identification bactérienne	37
II.5. Fréquence de bactéries isolées dans les différents services	42
II.6. Antibiorésistance	46
II.7. Test de synergie (Recherche de Bêta-lactamase à spectre élargi)	50
II.8. Test de Hodge	51
Conclusion	53
Référence bibliographiques	
Annexes	

Introduction

INTRODUCTION

Actuellement, on assiste à l'émergence dans nos structures hospitalières de bactéries Gram négatives. La dissémination de ces souches dépend d'une part des « réservoirs » et d'autre part de la transmission des germes. Les différents réservoirs potentiels de ces bactéries sont les patients eux-mêmes, le personnel soignant, le matériel médical et l'environnement. Ces agents pathogènes nosocomiaux peuvent bien survivre ou persister sur des surfaces pour des mois et peuvent ainsi être une source de transmission en continu en l'absence de désinfection régulière préventive des surfaces (**Otter et al., 2011**).

Les bactéries à Gram négatif sont de plus en plus incriminées dans ces infections nosocomiales, notamment les espèces *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces deux espèces sont des germes pathogènes opportunistes caractérisés par leur ubiquité. Leurs exigences nutritives modestes leur permettent de survivre et de se multiplier sur des surfaces. De ce fait, ils sont fréquemment rencontrés en milieu hospitalier. Responsables ces dernières années d'infections nosocomiales, notamment au sein des unités de soins intensifs (**Husson et al., 1994**).

Ces bactéries font partie du groupe des bactéries MDR (Multi-Drug Résistant) classées par l'Organisation mondiale de la Santé comme les plus inquiétantes sur le plan de la résistance aux antibiotiques (**Howard, 2012**). En effet, leur capacité à acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques, ainsi qu'à survivre dans l'environnement hospitalier, font d'elles des bactéries d'importance dans les épidémies nosocomiales (**Peleg, 2008**). Ces bactéries sont reconnues à l'hôpital comme cause de bactériémies et de pneumonies acquises sous ventilation, mais également de surinfections de plaies, d'infections urinaires et de méningites post opératoires (**Antunes, 2014 ; Howard, 2012**).

Ces deux pathogènes opportunistes occupent donc une place importante en pathologie hospitalière. Le rôle particulier de l'environnement dans la propagation de ces germes dans les hôpitaux a été longtemps considéré comme négligeable. Leur fréquence croissante, leur potentiel pathogène et leur capacité à acquérir continuellement des résistances, par conséquent, ces bactéries doivent impérativement faire l'objet de programmes nationaux de surveillance dans tous les pays (**Cholley et al, 2013 ; D'Alessandro, 2012 ; Cavallo et al., 2002**).

A l'échelle nationale, très peu d'études ont été faites dans ce contexte et les données épidémiologiques concernant la fréquence des bacilles Gram négatifs dans l'environnement font défaut.

L'objectif de cette étude est d'isoler, d'identifier et de déterminer les caractères biochimiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* à partir d'échantillons provenant de différents sites de prélèvement de l'environnement appartenant aux différents services de l'hôpital de Boufarik. Nous évaluerons également leurs profils de résistance vis à vis des antibiotiques.

Rappels bibliographiques

I. *Acinetobacter baumannii*

I.1. Classification d'*Acinetobacter*

En 1984, le genre *Acinetobacter* a été officiellement inclus dans la taxonomie mondiale après son apparition sur la liste approuvée des espèces bactériennes (Approved Lists of Bacterial Names) et dans le manuel Bergey's de Bactériologie systématique (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) (**Jung et Park, 2015**).

Sur la base de l'ADN critères de parenté, Bouvet et Grimont, en 1986, distinguaient 12 groupes d'ADN (hybridation) ou génospécies, dont certains recevaient des noms d'espèces officiels, notamment *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, et *A. lwoffii* (**Manchanda et al., 2010**).

Le genre *Acinetobacter* appartient actuellement au domaine des *Bacteria*, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Pseudomonadales* et est classé dans la famille des *Moraxellaceae*, (**Tableau I**) (**Doughari et al., 2011**).

Tableau I : Nomenclature actuelle du genre *Acinetobacter*

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

(**Doughari et al., 2011**).

I.2. Habitat et pouvoir pathogène

Habitat

Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont considérées comme des microorganismes ubiquitaires et peuvent être isolées à partir d'échantillons humains, animaux et environnementaux (**Pailhoriès et al., 2015**).

A. baumannii se retrouve presque exclusivement en milieu hospitalier, en particulier dans les unités de soins intensifs. Bien que des isolats occasionnels d'*A. baumannii* aient été signalés à partir de sources non humaines (**Antunes et al., 2014**). Elle se trouve que

rarement dans le cadre de la microflore cutanée normale, selon une étude seulement 3% (ou plus) de la population sont colonisés par la bactérie (**Jaggi et al., 2012 ; Howard et al., 2012**).

Pouvoir pathogène

A. baumannii est principalement à l'origine d'infections nosocomiales du système respiratoire, de bactériémies, d'infections de plaies ou d'ISU. De manière moins fréquente, elle est également associée à des cas de méningites (**Gagne, 2018**). Elle n'est pas considérée comme un agent pathogène communautaire, mais chez les individus immunodéprimés et les enfants, il se propage dans des sites de trachéotomie et peut provoquer une bronchiolite et une trachéobronchite acquises par la communauté (**Asif et al., 2018**).

I.3. Caractéristique bactériologique

I.3.1. Morphologie et structure

Acinetobacter est un Coccobacille à Gram négatif, mesurant de 1,0 à 1,5µm de diamètre sur 1,5-2,5 µm de longueur, parfois encapsulée, souvent en diplocobacilles ou parfois en chaînes de longueur variable, non sporulées et immobile (**Denis et al., 2016 ; Doughari et al., 2011**). Bien que ces bactéries soient généralement considérées comme immobiles, une mobilité de type « mouvement par tremblement » ou « twitching motility » a été remarquée notamment sur des supports semi-solides (**Roca et al., 2012**).

Cependant, ces bactéries résistent parfois à la décoloration de Gram en retenant le crystal violet et peuvent donc être mal identifiées, comme des cocci Gram positif (**Doughari et al., 2011**).

I.3.2. Caractère culturaux

Ces bactéries se cultivent bien à 37°C sur les géloses utilisées en routine au laboratoire (gélose au sang, au sang cuit, trypticase soja, etc). Après une nuit d'incubation, elles ressemblent à des entérobactéries : les colonies mesurent de 1,5 à 3 mm de diamètre, sont de couleur grisâtre et sont généralement lisses mais peuvent être muqueuses chez les souches capsulées (**Peleg et al., 2008**). Les colonies apparaissent blanches sur les géloses chromogènes de type UTI (Oxoid).

L'incubation se fait à une température de croissance entre 33 et 35°C, mais la seule espèce à croître entre 41 à 44°C est *A. baumannii* (c'est une propriété qui permet de la différencier des autres espèces génomiques) (**Avril et al., 2000**).

I.3.3. Caractère antigénique

La bactérie possède une capacité hydrophobe qui permet la fixation à des matériaux étrangers tels que les plastiques utilisés dans les dispositifs intravasculaires. Il a été prouvé que l'hydrophobicité de surface est fortement exprimée dans les souches isolées de patients par rapport à la flore normale de la peau.

La protéine de membrane externe A (OmpA) est associée à une amélioration de l'adhésion, en particulier aux cellules épithéliales des voies respiratoires. *A. baumannii* échappe à l'abattage induit par la voie du complément alternatif en neutralisant le facteur H, principal régulateur de la voie alternative en complément, à l'aide de l'OmpA. Les vésicules de la membrane externe augmentent également la formation de biofilm sur les surfaces abiotiques.

Lipopolysaccharides (SPL) de *A. baumannii* sont constitués d'un antigène O, le noyau d'hydrate de carbone et un fragment de lipide A. Le LPS est un agent chimiotactique qui recrute des cellules inflammatoires et les oblige à libérer leur matériel cytotoxique (Asif et al., 2018).

I.3.4. Caractères biochimiques

Les *Acinetobacter* sont des bactéries présentant des réactions de catalase positive et d'oxydase négative, et n'ont pas la capacité de métaboliser les sucres par les voies fermentaires (Kurcik-Trajkovska, 2010; Vanechoutte et al., 2011). Par ailleurs, la majorité des tests biochimiques utilisés habituellement en bactériologie clinique sont négatifs : indole, réduction des nitrates en nitrites, décarboxylase pour la lysine (LDC), décarboxylase pour l'ornithine (ODC), production d'hydrogène sulfuré (H₂S), bêta-galactosidase et DNase.

Les tests de l'uréase, l'hydrolyse de la gélatine ou la phénylalanine désaminase (PAD) donnent quant à eux des réponses variables (Doughari et al., 2011 ; Hawkey et Bergogne-Berezin, 2006).

I.4. Persistance dans le milieu hospitalier

Il existe deux principaux facteurs pouvant contribuer à la persistance d'*A. baumannii* en milieu hospitalier : la résistance à la dessiccation et la résistance aux antimicrobiens majeurs.

A. baumannii peut survivre en moyenne 27 jours (extrêmes allant de 21 à 33 jours) sur des lamelles de verre, sans différence significative selon que la souche est épidémique ou sporadique. La résistance aux antibiotiques est étroitement liée à un environnement sélectif tel que les services de réanimation où les micro-organismes sont confrontés à une longue durée d'exposition aux antimicrobiens (Delbos, 2012).

La capacité des souches d'*A. baumannii* à survivre longtemps sur des surfaces sèches contribuera probablement à leur persistance dans les hôpitaux. À cet égard, il a récemment été signalé que la protéine RecA était impliquée dans la réponse au stress en général et dans la résistance au choc thermique et à la dessiccation chez *A. baumannii* (Giannouli et al., 2013).

La formation de biofilm augmente le taux de survie de *A. baumannii* sur des surfaces sèches et peut contribuer à sa persistance en milieu hospitalier, augmentant ainsi la probabilité d'infections et d'épidémies nosocomiales (Espinal et al., 2012).

I.5. Infections liées à *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii est devenu l'un des principaux responsables des infections nosocomiales, en particulier dans les unités de soins intensifs du monde entier. C'est un agent principal de la pneumonie sous ventilation assistée, qui représente près de 15% de toutes les infections nosocomiales. Elle est aussi impliquée dans des infections du sang dans 10 à 15% des cas à la suite de procédures invasives (cathéters, tubes ou canules intravasculaires ou respiratoires). *A. baumannii* représente une menace croissante pour les patients en neurochirurgie. Il est responsable de 4% de toutes les infections liées à la méningite et aux shunts, avec un taux de mortalité de 70%. Il est responsable de 2,1% des infections de plaies acquises en réanimation (Asif et al., 2018).

I.6. Résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii*

Une souche bactérienne est considérée résistante à un antibiotique donné, lorsqu'elle est capable de croître en présence de cet antibiotique, à une concentration significativement plus élevée que celle normalement active sur les souches sensibles de cette espèce. (Bousseboua, 2005).

I.6.1. Type de résistance

Résistance naturelle ou intrinsèque

Elle fait partie du patrimoine génétique normal du germe (Yala, 2001).

Les souches d'*A. baumannii* sont naturellement résistantes à la pénicilline G, à l'amoxicilline et aux céphalosporines de première et deuxième générations. (Figueiredo, 2011). Elle possède aussi naturellement sur son chromosome un gène codant pour une oxacillinase (ou β -lactamase de classe D) dont le représentant principal est OXA-51, avec de très nombreux variantes décrits comme OXA-69, OXA-66 par exemple. Le rôle des gènes de

type *blaOXA-51* dans la résistance naturelle de *A. baumannii* semble très faible (**Héritier et al., 2005**).

Résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie (normalement sensible) insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (**Yala, 2001**).

L'espèce *Acinetobacter* est connue pour leur résistance intrinsèque et leur capacité à acquérir des gènes codant pour la résistance. Celle-ci varie entre les pays, les centres et même parmi les différents services au sein du même hôpital (**Cisneros et Rodriguez-Bano, 2002**).

I.6.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

La dégradation à médiation enzymatique (bêta-lactamases), les manipulations génétiques (mutations, acquisition ou sortie d'un gène, régulation à la hausse ou à la baisse de l'expression génique) et les pompes à efflux sont différentes stratégies adoptées par *Acinetobacter* pour échapper à la destruction des antibiotiques (**Asif et al., 2018**).

I.6.3. Supports génétiques de la résistance aux antibiotiques

La résistance chromosomique

La résistance chromosomique compte pour au moins 5% de la résistance rencontrée en clinique. Elle est souvent stable et tire son origine soit d'un gène de résistance (ex: *ampC*) ou de mutations ponctuelles dans un gène bactérien qui altèrent la cible d'un antibiotique (**Murray et al., 2005**). Cette résistance, bien que de support chromosomique, n'est pas figée: Des enzymes AmpC présentant des modifications structurales, par mutations ou délétions de nucléotides, ont été décrites (**Bernaude et al., 2004**). Ces enzymes peuvent être hyperproduites, par modification de leur régulation (**Bagge et al., 2002**). Après mobilité, les gènes codant pour ces enzymes ont également été observés sur des plasmides : AmpC plasmidique (**Philippon et al., 2002**).

La résistance extra-chromosomique

a. Les séquences d'insertion

Les séquences d'insertion (IS) sont la forme la plus simple d'un élément transposable, généralement de taille inférieure à 2,5kb, capables de se déplacer de façon autonome dans les génomes microbiens et ne codent que pour leur propre transposition (**Mugnier et al., 2009**). Ces structures sont très répandues dans le genre *Acinetobacter* (**Segal et al., 2005**).

b. Les transposons

Ils représentent un autre support génétique de la résistance. C'est un élément génétique mobile, formé d'une séquence d'ADN sans existence autonome stable, mais cette séquence est capable de promouvoir sa propre translocation grâce à la présence d'un gène codant pour une transposase (Merad, 2014).

c. Les intégrons

Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Ces dernières sont des éléments mobiles capables de s'intégrer ou de s'exciser par un mécanisme de recombinaison, spécifique de site, lié à l'intégrase. A la différence des plasmides, les intégrons sont incapables d'autoréplication (Toussaint et al., 2002).

I.6.4. Mécanisme biochimique de la résistance aux antibiotiques

 **Les β -Lactamines**

Les bêta-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille, qui regroupe les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames, est caractérisée par la présence constante du cycle bêta-lactame associé à des cycles et des chaînes latérales variables qui expliquent les propriétés pharmacocinétiques et le spectre d'activité des différents produits. La grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leur popularité et l'importance de leur utilisation, seules ou en associations (Cavallo et al., 2004).

A. Mécanisme d'action des β -Lactamines

Les β -lactamines se fixent sur les PLP à la place du dipeptide d'alanine avec lequel elles présentent une analogie structurale. Cette fixation bloque la synthèse du peptidoglycane et de ce fait la croissance bactérienne. La bactéricide est obtenue avec l'activation du système enzymatique de la muréine hydrolase qui provoque l'éclatement de la bactérie. β -lactamines arrêt de synthèse du peptidoglycane + activation de l'autolyse Effet létale (Pourriat et Martin 2005).

B. Résistance aux bêta-lactamines

La résistance aux bêta-lactamines est médiée par une dégradation accrue par les bêta-lactamases, altération des protéines liant la pénicilline, des modifications des porines de la membrane externe entraînant une diminution de la perméabilité et une expulsion des antibiotiques hors de la cellule par la pompe d'efflux. Parmi les bêta-lactamases, l'ampC

céphalosporinase ou la bêta-lactamase de classe moléculaire C est plus prévalente chez *A. baumannii* (Asif et al., 2018).

B.1. Résistance enzymatiques

❖ **Céphalosporinase de classe C**

Par production naturelle d'une céphalosporinase de type AmpC qui est normalement exprimé à bas niveau (Nordmann et al., 2009).

❖ **Oxacillinase de classe D**

Par production d'une bêta-lactamase de classe D qui est l'oxacillinase (qui hydrolyse en général l'oxacilline, la méthicilline, cloxacilline ect.....) représentée par le cluster d'enzyme OXA-51/OXA-69 (Gerischer, 2008).

❖ **Métallo- β -lactamases de classe B**

Les β -lactamases de classe B ont besoin d'un atome de zinc pour détruire les β lactamines (Clavilier et al., 2001) cette classe d'enzyme les hydrolyse tous à l'exception des monobactames. (Conly et al., 2011).

❖ **β -actamases à spectre élargi Chez *A. baumannii***

Les BLSE sont soit chromosomiques ou plasmidiques (Sinha et al., 2007) Les enzymes du type GES et PER, VEB et IBC-2, ont été largement retrouvées chez *A. baumannii*, Les enzymes du type VEB hydrolysent de préférence la ceftazidime et l'aztréonam (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

B.2. Résistance non enzymatiques

❖ **Imperméabilité**

Par les protéines de la membrane externe OMP : Les porines sont des protéines capables de former des canaux permettant le transport des molécules à travers les membranes de bicouches lipidiques. Avec une structure variable elles sont une stratégie de survie développée par cette bactérie (Vila, 2007)

❖ **Les pompes à efflux**

Ont été montrées pour avoir un rôle croissant dans le phénotype intrinsèque et acquise de la résistance aux antibiotiques. Elles sont codées par les chromosomes au sein des bactéries, mais peuvent également être acquises dans le cadre horizontal de transfert de gènes (Bergogne-Bérézin, 2008)

❖ Modification de l'expression des PLP

L'efficacité des bêta-lactamines est liée à leur capacité de se fixer aux PLP (cible). Diverses mutations peuvent entraîner leur modification (PLP) diminuant ainsi l'efficacité de l'antibiotique (Toure, 2004)

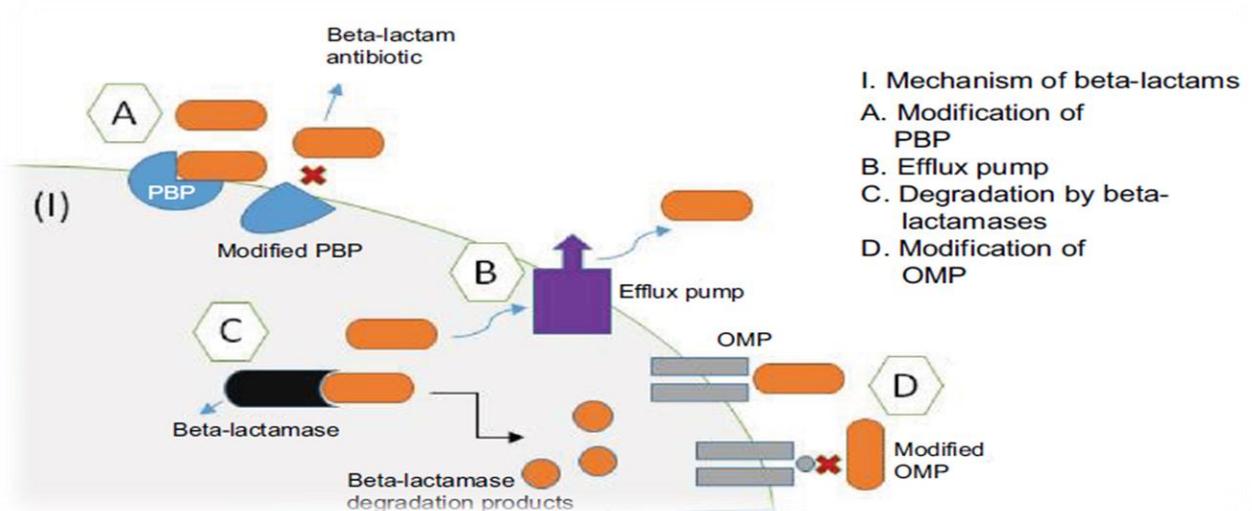


Figure 1 : Mécanismes de résistance d'*A. baumannii* aux β -lactamines (Asif et al., 2018)

Tableau II : Mécanismes de résistances d'*A. baumannii* aux antibiotiques

Antibiotiques	Mécanisme de résistance
Aminosides	Modification du groupe amine ou hydroxyle par les enzymes modifiant le groupe aminoglycoside (adénylases, acétylases)
Quinolones	Mutations des gènes <i>gyrA</i> et <i>parC</i> entrainant la modification phénotypiques de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV ce qui entraine une affinité réduite pour le médicament.
Colistine	Mutation dans les gènes codant pour le lipide A se qui entraine la perte de LPS (cible de la colistine)
Chloramphénicol	Acquisition du gène d'une acétyltransférase (<i>cat1</i>)
Tétracyclines	Présence de pompes a efflux

(Asif et al., 2018)

C. Résistance a d'autres antibiotiques

A.baumannii est naturellement résistant à bas niveau au triméthoprime (CMI de 16 à 32 mg/l. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice) (Joly-Guillou, 2006 ; Naas et al., 2008). La résistance aux polymyxines est rare, cependant un mécanisme de résistance impliquant un système de régulation à 2 composants PmrAB a été décrit récemment (Decré, 2012).

II. *Pseudomonas aeruginosa*

II.1. Classification de *Pseudomonas aeruginosa*

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* du grec *Pseudo* (« imitation ») et du latin *aeruginosus* (« couvert de rouille ») autre fois appelée « bacille pyocyanique » (Mérens et al., 2013).

La classification est présentée dans le tableau suivant :

Tableau III : Taxonomie de *P. aeruginosa*

Régne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>P.aeruginosa</i>

(Delarras, 2007).

II.2. Habitat et pouvoir pathogène

Habitat

P. aeruginosa est un germe hydrotellurique, présent essentiellement dans les environnements humides. C'est une bactérie ubiquitaire et résistante dans l'environnement, répandue dans les eaux polluées ou non, les sols humides et les végétaux où elle vit à l'état saprophyte. *P. aeruginosa* peut être transitoirement présent chez l'homme et les animaux, au niveau du tractus digestif (selles), de la peau (plis cutanés humides), du conduit auditif externe ou du nasopharynx (Mérens et al., 2013).

En milieu hospitalier peuvent être une source de contamination : on retrouve ainsi comme source potentielle les siphons d'éviers, les chasses d'eau, les piscines et bains bouillonnants, les humidificateurs, les nébulisateurs et les respirateurs artificiels (Mérens et al., 2013).

En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est parfois présent dans les solutions aseptiques et sur les instruments tels que les cathéters, les sondes, ou encore dans les canalisations et les lavabos (**Wolfgang et al., 2003**).

Sensible à la dessiccation, *P. aeruginosa* est capable d'une très grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique, qui lui permet de survivre dans un environnement hostile en utilisant une grande variété de substrats comme source de carbone (**Mérens et al., 2013**).

Pouvoir pathogène

P. aeruginosa C'est un agent pathogène opportuniste essentiellement responsable d'infections nosocomiales (**Amazian et al., 2010**).

Dans les infections communautaires, elle est responsable principalement de bronchopneumopathies évoluant sur un mode chronique dans la mucoviscidose et les affections respiratoires dues à la dilatation des bronches ; d'otites externes, d'endophtalmies après traumatisme, d'infections cutanées dans les ulcères (**Japoni et al., 2009**).

Dans les infections nosocomiales, elle est impliquée dans les pneumopathies chez les malades sous respirateur, les infections urinaires chez les malades sondés, les infections cutanées secondaires à des brûlures, les infections ostéo-articulaires sur matériel (**Fuentefria et al., 2011**).

II.3. Caractéristiques bactériologiques

II.3.1. Caractères morphologiques

Il s'agit d'un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet de 1 à 3 μm de long et 0,5 à 0,8 μm de large. *P. aeruginosa* est une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (**Hafiane et Ravaoarino, 2008**).

II.3.2. Caractères biochimiques et métaboliques

P. aeruginosa présente un métabolisme oxydatif (non fermentant), réduit généralement les nitrates au-delà des nitrites et produit de l'ammoniac à partir de la dégradation de l'acétamide (**Delarras, 2007 ; Pecastaings, 2010**).

Elle donne des réponses positives pour les tests : catalase, oxydase, Arginine d'hydrolase (ADH), citrate de Simmons, et la gélatinase et des réponses négatives pour les tests suivants : Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), indole, β -galactosidase (quelques souches hydrolysent l'ONPG au moyen d'une enzyme différente de la β -galactosidase) (**Touati, 2013 ; Diarra, 2009**).

Production de pigments

Selon **Delarras (2007)**, *P. aeruginosa* produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification, ils peuvent être mis en évidence dans les milieux de King B et King A.

- **Pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- **Pyocyanine (phénazinique)** : pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme, *P. aeruginosa* est la seule espèce à le produire.

II.3.3. Caractères cultureux

C'est une bactérie mésophile capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C (**Saussereau, 2013 ; Khalilzadeh, 2009**).

P. aeruginosa est une bactérie aérobie possédant un métabolisme oxydatif, mais en absence d'oxygène elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons (**Van Alst et al., 2009**). Elle est caractérisée par une odeur florale (**Flandrois, 1997**).

Trois types de colonies peuvent être observées simultanément ou de manière isolée sur milieux solides (**Denis, 2007**) :

- Colonies larges « L » de 2 à 3 mm de diamètre, à bord irrégulier, rugueuses, une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques.
- Colonie plus petites lisses « S » bombées à bord régulier.
- Colonies muqueuses « M » bombées, coalescentes, filantes rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère d'alginate.

II.3.4. Caractères antigéniques

Il existe, chez *P. aeruginosa*, un antigène somatique O (antigène de la paroi) thermostable, composé d'une fraction protéinique qui rend le complexe antigénique ; et d'une fraction polyosidique (polysaccharidique) qui détermine la spécificité de l'antigène (**Cady, 2006**).

Le sérotypage des souches, grâce à des antisérums dirigés contre cet antigène, permet de distinguer 16 sérotypes différents selon la classification de l'IATS (International Antigenic Typing System). Habituellement, 90 à 95% des souches peuvent être typées avec ce système

(Cady, 2006). Les antigènes O:1 à O:11 sont les plus fréquents ; le sérotype O:12 présente la particularité d'être le plus résistant aux antibiotiques et est le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales (Oulymata, 2007). Il existe aussi un antigène flagellaire H, thermolabile. Permettant un typage qui en combinaison avec le typage O, permet de reconnaître au moins 25 sérovars (Cady, 2006).

II.4. Infections liées à *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa se place parmi les agents étiologiques majeurs impliqués dans les infections nosocomiales. La responsabilité de *P. aeruginosa* était en cause, tous services confondus, dans 20,6 % des bronchopneumopathies, 15,4 % des infections de la peau et des tissus mous, 9 % des infections du site opératoire, 7,8 % des infections urinaires et 6,4 % des bactériémies. Il existe de grandes variations entre les hôpitaux et services. *P. aeruginosa* représente 10,7 % des bactéries isolées dans les infections nosocomiales survenant dans les services de court séjour (15,4 % en réanimation contre 10,1 % en médecine , 9,4 % en chirurgie et 1,7 % en obstétrique), 9,3 % dans les services de soins de suite et réadaptation , 8,7 % dans les services de long séjour et 6,5 % en psychiatrie. En réanimation et unités de soins intensifs, les patients, souvent immunodéprimés, sont habituellement intubés, ventilés, sondés et porteurs de cathéters périphériques et centraux ; le risque de contamination et d'infection à *P. aeruginosa* est majeur. *P. aeruginosa* est en cause dans 15,7 à 17 % des infections en réanimation (Mérens et al., 2013).

II.5. Résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*

II.5.1. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques

II.5.1.1. Résistance naturelle

P.aeruginosa possède une membrane externe faiblement perméable, ce qui lui confère une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, dont la plupart des β -lactamines hydrophiles. Mais cette résistance naturelle résulte le plus souvent de l'intervention d'autres mécanismes, comme la production d'une céphalosporinase chromosomique et l'existence d'un système d'efflux (MexAB-OprM) (Carpentier et al., 2003).

A. Résistance aux β -lactamines

Elle est liée à plusieurs mécanismes :

- Production d'une céphalosporinase chromosomique inductible AmpC, responsable de la résistance à l'Amoxicilline, et aux C1G, C2G, Cotrimoxazole.
- Faible perméabilité membranaire aux β -lactamines, due à la taille insuffisante des porines.

Existence d'un phénomène d'efflux actif, via la production constitutive de MexAB-OprM et la production inductible de MexXY-OprM (Carpentier et al., 2003).

B. Résistance aux aminosides

P. aeruginosa est naturellement résistant à la Kanamycine via la production d'une phospho-transférase (Carpentier et al., 2003).

C. Résistance aux autres antibiotiques

P. aeruginosa est naturellement résistant : aux macrolides, aux tétracyclines, à la Rifampicine, au Chloramphénicol, aux sulfamides, aux Glycopeptides (Carpentier et al., 2003).

II.5.1.2. Résistances acquises

A. Résistance acquise aux β -lactamines

Résistance enzymatique

Acquisition de pénicillinases plasmidiques : PSE, OXA, TEM Celles-ci confèrent une résistance à la Ticarcilline et la Pipéracilline et certaines céphalosporines, mais la sensibilité à la Céfotaxime, l'Aztréonam, et l'Imipénème est conservée.

Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC par mutation d'un gène de régulation : « céphalosporinase dérégulée ». Celle-ci confère une résistance aux pénicillines et céphalosporines, mais la sensibilité est conservée à l'Imipénème.

Acquisition d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE) : \emptyset Ce sont des enzymes plasmidiques conférant une résistance aux pénicillines et aux C3G, restaurée théoriquement par les inhibiteurs de β -lactamases, avec une sensibilité conservée à l'Imipénème. Elles sont très rarement rapportées chez *P. aeruginosa* (contrairement à *Klebsiella* et *Enterobacter*).

❖ **Imipénèmase**

Il s'agit d'une métallo- β -lactamase conférant une résistance aux carboxypénicillines, aux céphalosporines et à l'Aztréonam, ainsi qu'un bas niveau de résistance à l'Imipénème. La sensibilité à la Pipéracilline et à l'Aztréonam est conservée. En cas d'association de ce mécanisme à un mécanisme d'imperméabilité, on obtient un haut niveau de résistance à l'Imipénème (**Carpentier et al., 2003**).

 **Résistance non enzymatique**

❖ **Acquisition par mutations de systèmes d'efflux actif**

Les mutations aboutissent à la surproduction des pompes transmembranaires permettant d'expulser l'antibiotique hors de la bactérie, en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de la membrane cytoplasmique. Le niveau de résistance est moindre que chez les souches productrices de β -lactamase. Certaines souches ne sont résistantes qu'à la Ticarcilline, cette résistance n'étant pas restaurée par les inhibiteurs de β -lactamase. La plupart des souches restent sensibles à la Pipéracilline et à la Céfotaxime (**El ouadnassi et Boughalem, 2009 ; Carpentier et al., 2003**).

❖ **Mutation de la porines D2 (mutants OprD)**

En association avec une hydrolyse partielle par la céphalosporinase chromosomique, ce mécanisme induit une résistance sélective à l'Imipénème. La sensibilité au Méropénème est conservée (**El ouadnassi et Boughalem, 2009 ; Carpentier et al., 2003**).

B. Résistance acquise aux aminosides

La résistance aux aminosides concerne par ordre de fréquence décroissante : la Gentamicine, la Tobramycine, la Netilmicine, et l'Amikacine. La corésistance avec les β -lactamines et les fluoroquinolones est fréquente, surtout pour le sérotype O :

Il existe 2 mécanismes différents de résistance aux aminosides :

 **Résistance enzymatique**

Acquisition d'enzymes plasmidiques inactivatrices des aminosides. Ce sont les aminoacétyl-transférases, nucléotidyl-transférases, phospho-transférases.

❖ **Imperméabilité**

Diminution des mécanismes de transport actif de l'antibiotique dans la bactérie, responsable d'une résistance de bas niveau à tous les aminosides (**El ouadnassi et Boughalem, 2009 ; Carpentier et al., 2003**).

C. Résistance acquise aux fluoroquinolones

Elle peut survenir selon 3 mécanismes :

❖ **Modification de l'affinité de la cible**

Des mutations des sous-unités A et B de l'ADNgyrase ou de la sous-unité par C de la topo-isomérase IV, sont responsables d'une augmentation des CMI, d'intensité variable selon les mutants.

❖ **Trouble de la perméabilité**

Par modification des porines ou du lipopolysaccharide.

❖ **Efflux actif**

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe une résistance croisée de bas niveau aux fluoroquinolones avec la résistance aux β -lactamines par efflux. Ainsi de faibles concentrations de fluoroquinolones peuvent sélectionner des mutants résistants aux 2 familles d'antibiotiques. Plusieurs mécanismes coexistent la plupart du temps (notamment l'association de la mutation de gyrA et d'un efflux), pouvant être responsables d'une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones (**El ouadnassi et Boughalem, 2009 ; Carpentier et al., 2003**).

D. Résistance acquise à la Fosfomycine

Elle est fréquente : 70 à 80% des souches. Les souches O : 12 sont paradoxalement fréquemment sensibles à la Fosfomycine, contrastant avec leur multi-résistance aux autres antibiotiques (**El ouadnassi et Boughalem, 2009 ; Carpentier et al., 2003**).

E. Résistance acquise à la colistine

L'émergence et la propagation de souches de *P. aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques a conduit à la résurgence de l'utilisation des antibiotiques tels que la polymyxine B et la colistine comme agents thérapeutiques (**Nation et Li, 2009**). Pourtant, les bacilles pyocyaniques sont parvenus à modifier la composition de leur membrane externe de façon à la rendre imperméable à ces deux agents par une modification déterminée de la composante

lipidique A du LPS (**Moskowitz et al., 2004**). ce qui entraîne une réduction de la charge nette négative de la membrane externe (**Vidailac et al., 2012**), soit par des mutations ou par l'activation de systèmes membranaires complexes appelés « systèmes de régulation à deux composants » tels que ParR/S (**Muller et al., 2011**).

III. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

On regroupe habituellement sous le terme d'environnement hospitalier les éléments suivants : air, eau, surfaces (sols, murs, mobilier, équipement), linge, aliments, dispositifs médicaux, déchets (Saouide el ayne et al., 2014 ; Hajjar et al., 2000).

Ces éléments supportent de nombreux micro-organismes et cette contamination environnementale est très variable qualitativement et quantitativement d'un établissement à l'autre et au sein d'un même établissement en fonction des services, des patients (sains, colonisés, infectés), des soins et des techniques pratiqués (Hajjar et al., 2000).

III.1. Zone de risque à l'hôpital

Les locaux hospitaliers sont classés selon le risque infectieux en 4 types de zones (Tableau IV) :

Tableau IV : Zone à risque infectieux à l'hôpital

Zone 1	Zone 2	Zone 3	Zone 4
Risque faible	Risque moyens	Risque élevés	Très haut risque
Services administratifs Salles de réunion et de formation Restaurant du personnel Internats Halls Bureaux Ascenseurs visiteurs Escaliers Circulations hors services de soins Sanitaires Services techniques et logistiques (y compris réserves) Locaux d'archivage	Psychiatrie Centre médico-psychologique (CMP) Crèche Salles d'attente Consultation Bureaux intra-unités Sanitaires communs Chambre de garde Offices alimentaires Salles à manger Salles de détente Ludothèque Ascenseurs Escaliers Circulations Local de pré-désinfection des dispositifs médicaux Local de stockage du linge propre Local de stockage des	Soins Continus Réanimation Urgences Unité hospitalisation courte durée (UHCD) Salle de surveillance post interventionnelle salle d'accouchement Médecine Chirurgie Maternité Pédiatrie Néonatalogie Oncologie /Hématologie Hémodialyse Odontologie Médecine nucléaire Service long et moyen séjour Soins de suite et de réadaptation Balnéothérapie Exploration Fonctionnelle	Bloc opératoire Bloc obstétrical Bloc d'imagerie interventionnelle Bloc Laser Unité de greffe d'organe et de moelle osseuse Service des grands brûlés Laboratoire de virologie et bactériologie (P3 et 4) Salle de préparation des Cytotoxiques oncologiques (UPCO) Salle de préparation mise en forme aseptique(UMFA)

	Matériels Local intermédiaire de stockage des déchets et du linge sale Local de ménage, local technique lave-bassin, vidoir Stérilisation centrale (zone lavage) Pharmacie Blanchisserie Dépotoire Vestiaires	Hémodynamique Imagerie médicale Endoscopie Nurserie Biberonnerie Salles de soins Stérilisation Centrale (zone de conditionnement) Laboratoires (sauf P3-4) Salle d'autopsie	
Entretien quotidien		Entretien quotidien/pluriquotidien	

(Galy et Verdeil, 2017)

III.2. Surface d'environnement hospitalier et Survie des micro-organismes :

Les surfaces environnementales sont toutes surfaces pouvant être colonisées par des microorganismes provenant de diverses sources : patients, personnels de santé et visiteurs ; il peut être cité le mobilier, le sol, les accessoires comme les barres de maintien ou encore les murs. Celles-ci jouent un rôle important dans la transmission de pathogènes. C'est pourquoi les améliorations au niveau du nettoyage et de la désinfection ont pu diminuer le nombre de transmissions de ces microorganismes (**Weber et al., 2013**).

Les infections exogènes ou infection croisées (voie exogène) sont causées par des germes extérieurs (ceux des autres malades, de l'environnement, des matériels, ou ceux transmis par les gestes de soins). Le risque est augmenté par la densité des soins et la fréquence de procédures invasives corroborées aux risques de transmission croisée (**Trifi et al., 2017**).

La survie des micro-organismes d'origine humaine sur les surfaces varie de quelques heures à plusieurs mois, en fonction des caractéristiques propres de ceux-ci et des conditions environnementales (**Le Gallou et Lepelletier., 2017**).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. MATERIEL ET METHODES

L'étude a été effectuée au niveau du laboratoire d'hygiène à Blida, durant une période allant du 28 février jusqu'au mois de mai 2019. Les prélèvements ont été effectués au niveau des services de néonatalogie et d'accouchement, et bloc opératoire à l'hôpital de Boufarik.

I.1. Matériel

❖ Matériel biologique

Représenté par les prélèvements, souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25922.

❖ Matériel non biologique

Représenté principalement par des milieux de culture, des réactifs, des appareillages (Voir annexe).

I.2. Méthodes

I.1.1. Type des prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage. Les sites de prélèvement diffèrent d'un service à un autre. Dans les services de néonatalogie et d'accouchements les prélèvements sont effectués à partir des lits, couveuses, portes, fenêtres, chariots, robinets, mur, tables, barboteur.

Au niveau du bloc opératoire, les prélèvements sont faits à partir de table opératoire, scopes, masque respiratoire, potence, scialytique, respirateur électrique, interrupteurs, évier/robinet (**Tableau V**).

Tableau V : Nombre de prélèvements selon les sites

Lieu de prélèvement	Sites de prélèvement		Nombre de prélèvement
Service de néonatalogie	Lits	54	190
	Rideaux	6	
	Chariot	10	
	Potence	9	
	Evier/robinet	14	
	Sols	10	
	Mur	12	
	Fenêtres	9	
	Porte	12	
	Couveuses	18	
	Chaise	4	
	Biberon	6	
	Distributeur de savon	4	

	Table d'examination	10	
	Barboteur	12	
Service d'accouchement	Lit	10	50
	Porte	6	
	Fenêtre	6	
	Mur	4	
	Scopes	5	
	Evier/robinet	8	
	Sol	4	
	Table d'examination	5	
	Chariot	2	
	Bloc opératoire	Evier/robinet	
Masque respiratoire		4	
Porte		5	
Table opératoire		7	
Potence		4	
Scopes		5	
Respirateur électrique		4	
Scialytique		6	
Interrupteurs		3	
Total		280	

I.1.2. Méthode de prélèvements

On utilise un écouvillon sorti de son emballage stérile, on humidifie l'extrémité en le plongeant dans un tube contenant le diluant (milieu BGT) et on élimine l'excès de diluant en le pressant contre la paroi du tube.

A l'aide de l'extrémité de l'écouvillon, on trace des stries sur une surface en faisant tourner l'écouvillon entre le pouce et l'index. On replace l'écouvillon dans le tube avec le diluant et on incube les prélèvements à 37°C pendant 24h.

Les différentes étapes de l'identification bactérienne sont présentées dans la figure 2.

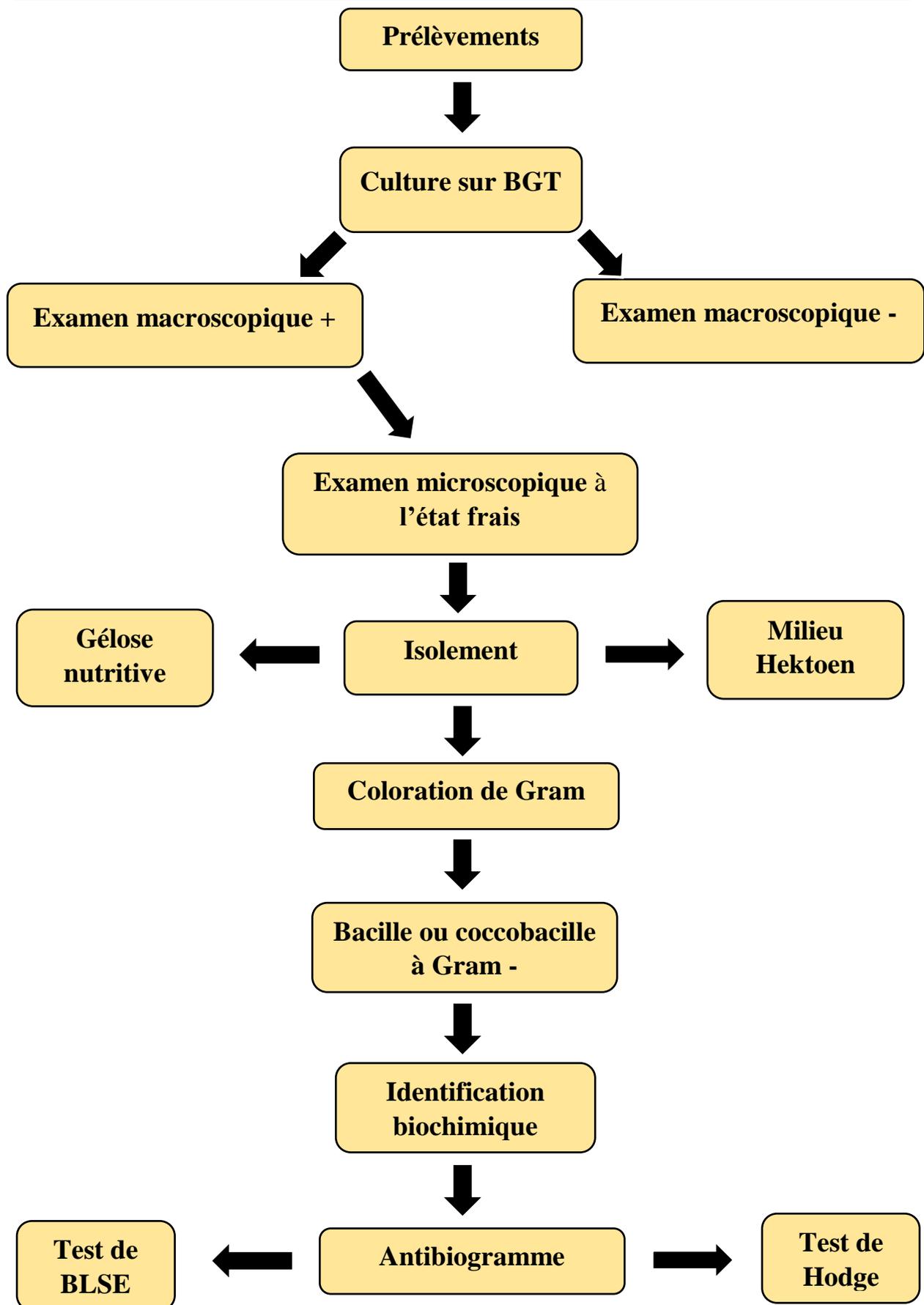


Figure 2 : Différentes étapes d'identification bactérienne

I.1.3. Examen macroscopique

Après incubation, les prélèvements doivent faire l'objet d'une observation macroscopique (à l'œil nu). Cette observation permet de déterminer la présence ou l'absence d'une culture bactérienne (présence ou absence de trouble).

I.1.4. Etat frais

L'examen à l'état frais se pratique sur les prélèvements troubles entre lame et lamelle et observés au microscope photonique G× 40.

Le but est d'observer les bactéries vivantes et permet de :

- ❖ Mettre en évidence leur mobilité.
- ❖ Mettre en évidence leur mode de groupement.
- ❖ Faire une approche de leur morphologie.

I.1.5. Isolement et purification

Après incubation, l'isolement a été fait à partir des tubes contenant du bouillon BGT présentant un trouble. Deux types de milieux de culture ont été utilisés : la gélose nutritive (GN), la gélose hektoen. L'ensemencement sur gélose a été fait comme suit :

- ❖ La première partie de la boîte a étéensemencée à l'aide de l'extrémité cotonnée de l'écouvillon imbibé dans le bouillon BGT, en frottant à la surface de la gélose.
- ❖ La deuxième partie a étéensemencée par une pipette Pasteur, à partir du premier ensemencement, en faisant des stries éloignées.

Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies. Ensuite, sélectionner les colonies présentant des bacilles ou coccobacilles à Gram négatif.

La purification se fait en poursuivant le repiquage sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.

I.1.6. Coloration de Gram

Il s'agit de la coloration de base en microbiologie. Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classifier en deux genres (Gram+ et Gram-).

❖ Technique

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

Après l'application du violet de gentiane et de la solution de lugol, il se forme un complexe coloré dans les cellules et toutes sont colorées en bleu-violet. Il existe une différence de perméabilité à l'agent de décoloration (alcool) entre la structure des parois des bactéries Gram+ et Gram- ce qui entraîne une différence dans la vitesse de dissolution des complexes formés. Ainsi, les bactéries Gram+ conservent leur coloration violette alors que les Gram- sont complètement décolorés. La dernière étape (fuchsine) constitue simplement une coloration de contraste afin de recolorer les bactéries Gram- en rose-rouge pâle.

I.1.7. Tests biochimiques

I.1.7.1. Galerie classique

Test d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries.

• Technique

Sur une lame ou boîte de pétri, déposer un disque d'oxydase imprégné par le réactif et à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée prendre une colonie de bactérie isolée et la gratter sur le disque.

- **Lecture** : observation immédiate

Oxydase + : le disque prend une teinte bleu ou violette.

Oxydase - : le disque reste incolore (**Guillaume, 2004**).

Test de catalase

Pendant la respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce à des enzymes qu'elles synthétisent.



- **Technique**

Sur une lame propre et sèche déposer deux gouttes d'eau oxygénée (H₂O₂) à chaque extrémité. À l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter une colonie bactérienne isolée à une goutte et la deuxième goutte servira de témoins positif ou négatif.

- **Lecture** : observation immédiate

Catalase + : dégagement de bulle d'O₂

Catalase - : absence de bulle d'O₂ (**Guillaume, 2004**).

Gélose TSI (Triple Sugar Iron)

Permet de mettre en évidence la fermentation du saccharose, du lactose et du glucose avec ou sans dégagement de gaz et production d'hydrogène sulfuré H₂S.

- **Technique**

À partir d'une suspension bactérienne en eau distillée stérile d'une colonie isolée suspecte prélevée à partir d'un milieu d'isolement sélectif, ensemer la surface inclinée par stries et le culot par piqûre centrale.

Incuber à 37°C pendant 24 heures (bouchon desserré) de manière à favoriser les échanges gazeux dans l'étuve.

- **Lecture**

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux

- * **Fermentation de glucose**

Culot rouge : glucose non fermenté / culot jaune : glucose fermenté

- * **Fermentation du lactose et/ou du saccharose**

- pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés

- pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

* **Production de gaz**

- apparition de gaz dans le culot.

* **Formation d'H₂S**

- formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre (**Guillaume, 2004**).

 **Citrate de Simmons**

Milieu synthétique pour la différenciation des Entérobactéries sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone.

• **Technique**

La pente estensemencée par une série de strie longitudinale, réalisée par pipette Pasteur, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Incuber à 37°C pendant 24 heures dans l'étuve.

• **Lecture**

Virage de l'indicateur de pH au bleu : citrate de Simmons + / Pas de virage de l'indicateur de pH : citrate de Simmons - (**Guillaume, 2004**).

 **Bouillon Clark et Lubs**

Bouillon glucosé pour la différenciation des entérobactéries, réaction de Vogues Proskauer et rouge de méthylène concernant la fermentation du glucose.

• **Technique**

Grâce à une pipette Pasteur et à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile mettre quelque goutte de la suspension dans le bouillon Clark et Lubs et incuber à 37°C pendant 24h.

Après 24h d'incubation partager le volume sur deux tubes à essais :

- Le test VP : ajouter 5 gouttes de VP1 et 5 gouttes de VP2 on incline le tube pour permettre une bonne oxygénation pendant 10 min ensuite on fait la lecture.

- Le test RM : ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthylène, la lecture est immédiate.

• **Lecture**

- **Test VP** : annaux rouge sur la surface : VP+, absence : VP-

- **Test RM**: rouge: RM+, jaune: RM- (**Guillaume, 2004**).

Urée Tryptophane ou Urée Indole

Appelée aussi urée indole qui est un milieu synthétique permet la recherche de l'uréase et de l'indole pour l'identification des bactéries à Gram -.

- **Technique**

Mettre quelque goutte la suspension bactérienne en milieu Urée-tryptophane et incubé à 37°C pendant 18h à 24h.

Après l'incubation, on fait la lecture de l'uréase ensuite l'indole après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Kovacs et la TDA (Tryptophane désaminase).

- **Lecture**

***Pour l'uréase**

- Virage de la couleur au rose violacé : réaction positive.

- Pas de virage : réaction négative.

***Après additionnement du réactif de Kovacs**

- Formation d'un anneau rouge : indole +.

- Absence d'anneau rouge : indole -.

***Après additionnement de 2 gouttes du TDA**

- couleur brun : TDA + / Absence de couleur brun TDA - (**Guillaume, 2004**).

Mannitol Mobilité

Le milieu mannitol mobilité permet d'étudier la mobilité des germes, et la recherche de la fermentation du mannitol (produit de réduction du D-mannose).

- **Technique**

À l'aide d'une pipette Pasteur, ensemer le milieu par pique centrale avec la souche à étudier puis incubé à 37°C pendant 18h à 24h.

- **Lecture**

- Virage de la couleur du milieu vers le jaune indique la dégradation du mannitol.

- Diffusion des germes autour de la pique en tour-billant indique la mobilité.

LDC /ODC et ADH

Le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* et *Pseudomonadaceae*, met en évidence la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH).

Les Décarboxylases (LDC, ODC) constituent le groupe où se situent les réactions les plus importantes en ce qui concerne la biodégradation des acides aminés par les bactéries ⇒ libération d' NH_3

- **Technique**

Mettre quelque goutte de la suspension bactérienne sur les milieux LDC, ODC et ADH ensuite ajouter quelque goutte d'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose, puis les incuber à 37°C pendant 24h.

- **Lecture**

Milieu jaune : test - / milieu reste violet : test + (**Guillaume, 2004**).

 **ONPG (Ortho-Nitro-Phenyl pyrano- Galactoside)**

La recherche de l'enzyme β Galactosidase.

- **Technique**

Elle consiste à mettre un disque d'ONPG prêt à l'emploi, dans 1 ml d'une suspension bactérienne (colonie bactérienne + eau physiologique) et à incuber à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Lecture**

Milieu jaune : ONPG + / Milieu reste incolore : ONPG - (**Guillaume, 2004**).

 **Nitrate réductase**

Ce test permet de rechercher l'enzyme Nitrate Réductase qui transforme le nitrate en nitrite.

- **Technique et lecture**

Sur bouillon nitraté, ensemencé avec la souche à étudier et incubé à 37°C pendant 18 à 24 h. ajouter successivement 5 gouttes de chacun des réactifs : NR 1 (solution d'acide sulfanilique) et NR 2 (solution d'alpha-naphtylamine).

- Coloration rouge-orangée après addition des 2 réactifs, la souche est nitrate réductase positive : (c'est à dire qu'elle possède une enzyme : la nitrate réductase qui catalyse la réduction des nitrates en nitrites).
- Le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de zinc.
 - * Coloration rouge : on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme, (nitrate réductase négative).
 - * Pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme, (nitrate réductase positive) (**Guillaume, 2004**).

I.1.7.2. Galerie Miniaturisé (api 20E)

La galerie api 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autre bacilles à Gram-, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

Technique

- ❖ **Préparation de la galerie :** Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et remplir les alvéoles avec de l'eau distillée pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation
- ❖ **Préparation de l'inoculum :** Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé et la mettre dans un tube d'eau distillée stérile pour réaliser une suspension bactérienne de 0,5 Mc Farland.
- ❖ **Inoculation de la galerie :** Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :
 - * Pour les tests **CIT** **VP** **GEL** remplir tube et cupule,
 - * Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
 - * Pour les tests : **ADH**, **LDC**, **ODC**, **H₂S**, **URE** créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
 - * Refermer la boîte d'inoculation et l'incuber à 37°C pendant 24h (**Bio Mérieux**).

Lecture : (voir annexe)

I.1.8. Antibiogramme

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis des ATB. Il a été réalisé selon la méthode diffusion en milieu gélosé, méthode des disques (Antibiogramme standard). La méthode utilisée est celle de *Kirby-Bauer* préconisée par le *NCCLS (National committee Clinical Laboratory Standard)*.

❖ **Principe**

La méthode des disques consiste à déposer à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablementensemencée avec une suspension bactérienne, des disques pré imprégnés d'une dose connue des différents antibiotiques. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, chaque disque est entouré d'une zone

d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des bactéries s'arrête là où existe dans la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche en seront déduits.

❖ **Choix des antibiotiques**

Le choix des antibiotiques utilisés dans cette étude a été fait selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 7^{ème} Edition 2014. La liste des antibiotiques testés sur *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* est présentée dans le (Tableau V) :

Tableau V : Liste des antibiotiques testés sur *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Famille		Antibiotiques	Sigle	Charge Du disque	Diamètres critiques		
					R	I	S
β-lactamines	Carboxypénicillines	Ticarcilline + acide calvulanique	TCC	75/10 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20
	Monobactames	Aztréonam	AZ	30ug	≤ 15	16 - 21	≥ 22
	Carbapénème	Imipénème	IMP	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22
	C3G	Céftazidime	CAZ	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Aminosides		Gentamicine	GN	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Quinolone		Ciprofloxacine	CIP	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21
Polypeptide		Colistine	CL	10 µg	≤ 10	...	≥ 11

(Rahal et al., 2014)

I.1.8.1. AntibioGramme par diffusion des disques

 **Milieu pour antibiogramme**

- Le milieu adéquat doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi

 **Technique**

➤ **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.

- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

➤ **Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

➤ **Application des disques et incubation**

Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres. Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures, couvercle en bas.

➤ **Lecture et interprétation**

Pour chaque antibiotique la mesure du diamètre de la zone d'inhibition se fait à l'aide d'un pied à coulisse. L'interprétation des souches (sensibles, intermédiaires ou résistantes) se fait selon les diamètres critiques qui sont représentées dans le (Tableau V), (**Rahal et al., 2014**).

I.1.8.2. Test de synergie

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Amler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam), Le test consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases et un disque de C3G ou un monobactame.

 ***Acinetobacter baumannii et Pseudomonas aeruginosa***

- **Technique**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque de Ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10 μ g) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de C3G : Céftazidime (CAZ 30 μ g), Aztréonam (AZ 30 μ g).

- **Incubation**

Incuber 18 H à 35 °C

- **Lecture**

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie entre les disques : (TCC et CAZ), (TCC et AZ)

S'il y a absence de synergie, on peut rechercher la BLSE par :

Le rapprochement des disques TCC et CAZ (15 mm et 20 mm centre à centre) au lieu de 30 mm, (**Rahal et al., 2014**)

I.1.8.3. Test de Hodge

❖ **Principe**

Test phénotypique largement utilisée pour la détection des carbapénèmases.

- Souches de référence : *Escherichia coli* ATCC 25922 sensible aux Carbapénèmes.
- Souches à tester (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*).

- Gélose Mueller-Hinton (MH).

- Disque d'Imipenème.

❖ **Technique**

- Ensemencer une souche d'*E.coli* ATCC 25922 sur une gélose MH.
- Ensemencer en stries radiales (du centre de la boîte à la périphérie) la souche à tester (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*).
- Sécher la boîte pendant 15 min
- Appliquer un disque d'Imipenème au centre de la boîte.
- Incuber la boîte 18h à 35°C en atmosphère normale.

❖ **Lecture et interprétation**

L'échancrure de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. coli* ATCC 25922 indique la présence d'une carbapénémase, (**Rahal et al., 2014**)

Résultats et discussion

II. RESULTATS ET DISCUSSION

Sur une période de quatre mois, s'étalant du mois de février 2019 jusqu'au mois de mai 2019, 280 échantillons ont été prélevés à partir de différents sites de l'environnement au niveau du service de néonatalogie, service d'accouchement et le bloc opératoire de l'hôpital de Boufarik. Après culture, isolement et identification nous avons obtenu les résultats suivants :

II. 1. Répartition des résultats des différents prélèvements effectués

Sur un total de 280 prélèvements provenant des services de néonatalogie, accouchement et bloc opératoire, 104 cas avec un taux de 37,14% se sont révélés positifs, tandis que 176 cas avec un taux de 62,86 % se sont révélés négatif (**Figure 3**).

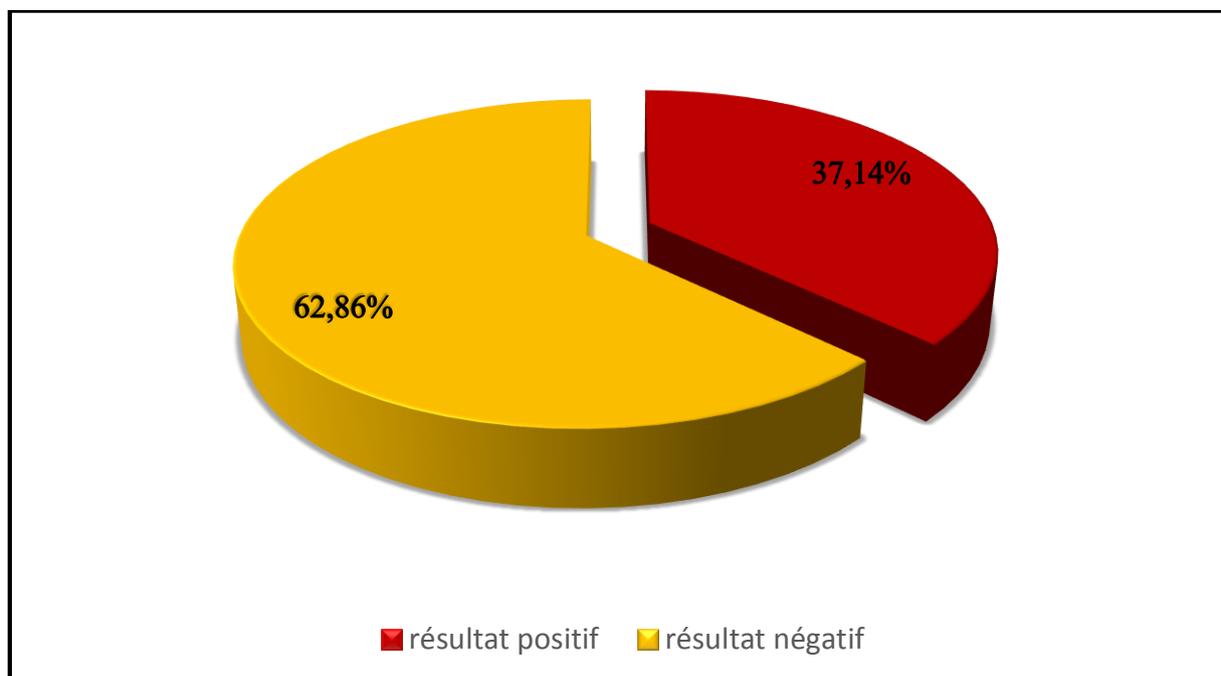


Figure 3 : Répartition des résultats des différents prélèvements effectués

Ce taux assez élevé fait penser que les infections nosocomiales posent toujours un véritable problème de santé publique du fait de leur fréquence, leur gravité et de leur cout socio-économique (**FKI et al., 2008**). En effet, elles représentent une charge importante pour les patients comme pour la santé publique.

Dans une étude transversale descriptive qui a été menée dans deux hôpitaux (Hôpital universitaires de Lubumbashi et Hôpital Janson Sendwe) au Congo au sein de cinq services

d'hospitalisation (Chirurgie, Gynéco-Obstétrique, Médecine interne, Pédiatrie et Réanimation) par **Kakupa et al., (2016)**, la prévalence globale d'infections nosocomiales est de 34,5%.

Selon une étude menée par **Ouendo et al., (2015)** au Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin), la fréquence des infections associées aux soins et des infectés était respectivement de 10,88% et 9,84%.

II.2. Répartition des résultats selon les sites de prélèvements

Selon l'origine des prélèvements, on remarque que le nombre de prélèvements effectués au niveau de service de néonatalogie est plus élevé que celui de service d'accouchement et du bloc opératoire.

Sur les 104 échantillons positif, on a enregistré un taux de positivité de 63,46% au niveau de service de néonatalogie. En revanche, au niveau de service d'accouchement et de bloc opératoire sont représentés comme suit 19,23% et 17,31% (**Figure 4**).

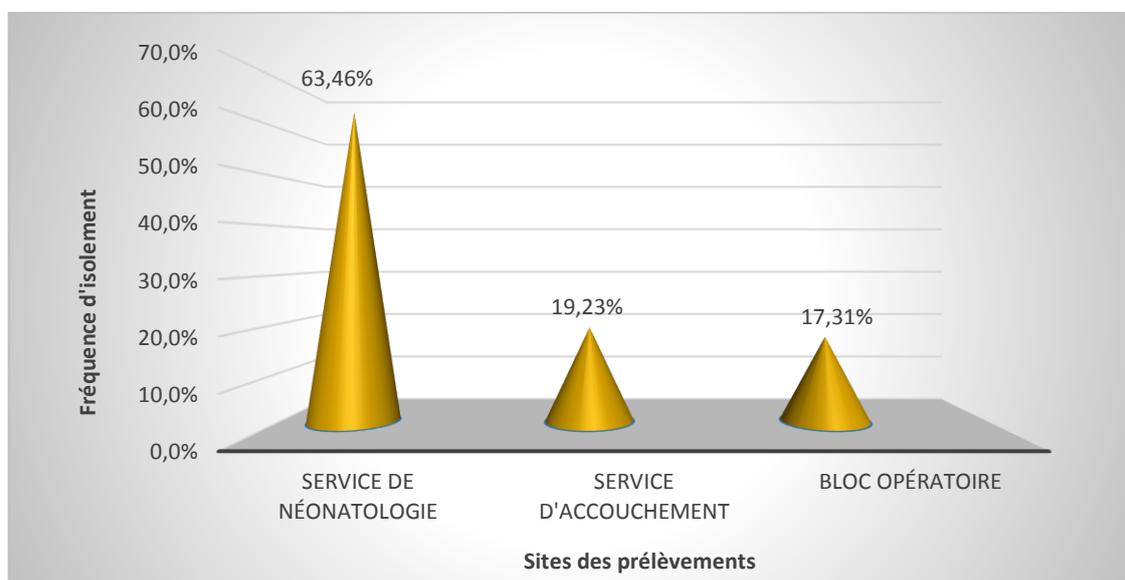


Figure 4 : Répartition des résultats selon les sites de prélèvements

Actuellement, il devient admissible que la fréquence des infections nosocomiales (IN) dans les services de réanimation est plus élevée que dans les autres secteurs de soins. Leur gravité potentielle dans ce type de service est liée à la plus grande fragilité du patient et à la nature même des soins prodigues (actes invasifs plus fréquents et répétés). Le patient de réanimation est fragile (de par ses antécédents) ou vient d'être fragilisé (de par son motif d'admission) (**Trifi et al., 2017**).

Une étude multicentrique a été menée dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne (en Algérie, en Égypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie) par **Amazian**

et al., (2010), qui ont constaté que les services de réanimation étaient ceux qui présentaient le taux de prévalence le plus élevé (24,8 %), suivie des services de pédiatrie (11,3 %). Les services chirurgicaux, la gynéco- obstétrique et les services médicaux avaient des taux de prévalence de 8,0 %, 7,7 % et 7,6 % respectivement.

II.3. Répartition des bactéries isolées selon les services

Un total de 72 a été obtenu à partir de 104 échantillons positifs. Parmi elles, 39 souches (54,17%) ont été isolées à partir du service de Néonatalogie, 27 souches (37,50%) à partir du service d'accouchement et six souches (8,33%) à partir du bloc opératoire.

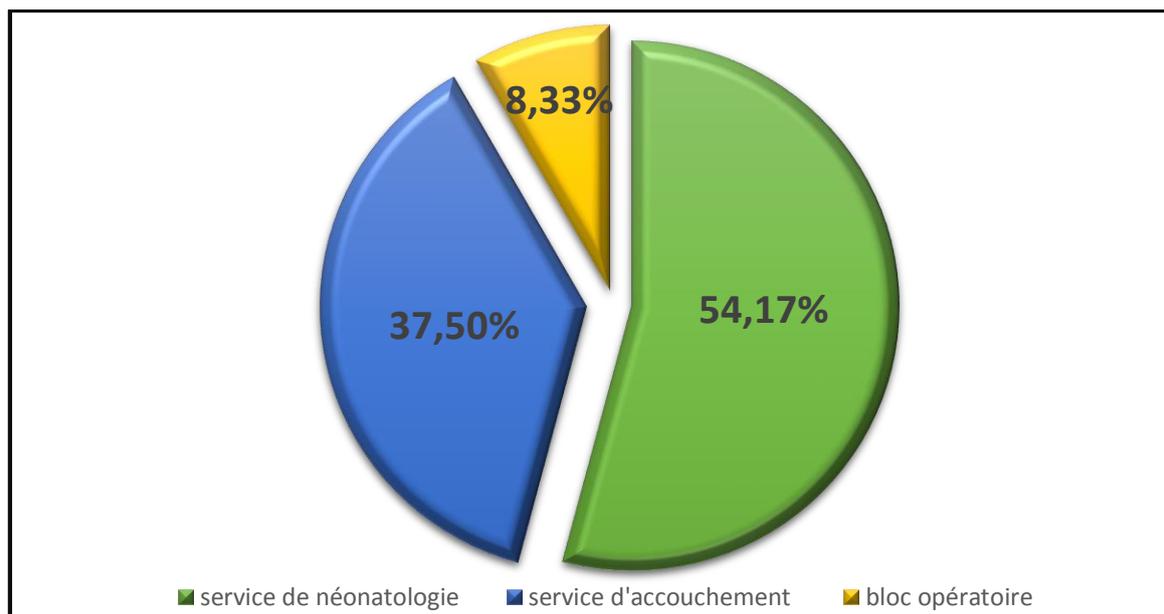


Figure 5 : Répartition des bactéries isolées selon les services

Les résultats obtenus dans cette étude rejoignent ceux de *Cavallo et al.*, (2002). En effet, ces mêmes auteurs signalent que la contamination de l'environnement hospitalier varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et, au sein d'un même établissement en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées.

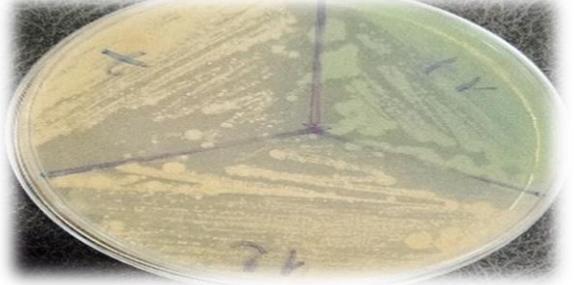
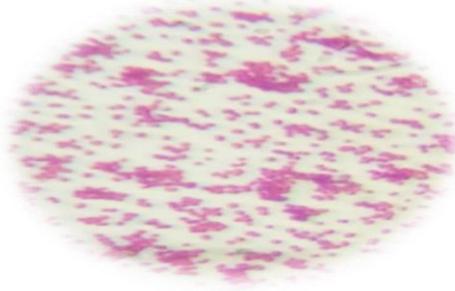
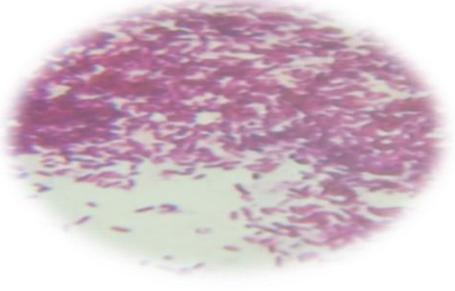
Ces résultats (**figure 5**) pourraient également être expliqués par les différences des fréquences de prélèvements entre les différents services. Par exemple, le nombre des prélèvements réalisés dans le service de néonatalogie (190) était plus élevé que ceux réalisés au niveau du service d'accouchement (50) et ceux du bloc opératoire (40). En plus, l'abondance et la diversité des souches dans ces services pourraient être expliquées par le fait qu'il s'agit des lieux ouverts et très fréquentés où une grande diversité de personnes passe à travers et, par

conséquent, que la diversité microbienne devrait être plus liée à celle associée à la communauté humaine locale (Poza et al., 2012).

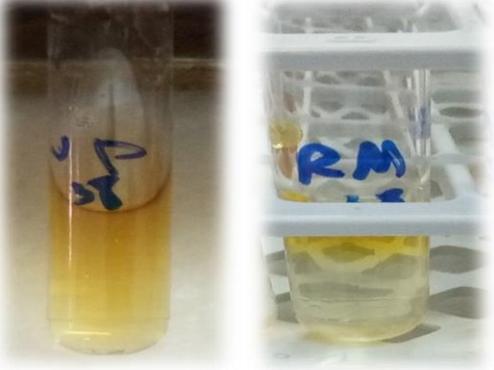
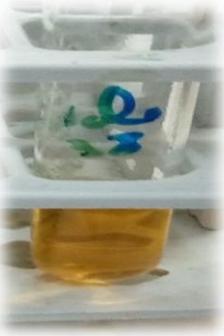
II.4. Résultats de l'identification bactérienne

Les résultats de la culture, coloration de Gram, et galerie classique pour les deux bactéries, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*, sont représentés dans le (Tableau VII et Tableau VIII) et la galerie api 20e pour *A. baumannii* dans le (Tableau IX).

Tableau VII : Résultats d'identification d'*A. baumannii* et *P. aeruginosa*

Bactéries	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Culture	 <p>Couleur : (grisâtre sur Gélose nutritive et verdâtre sur hektoen) Odeur : ammoniacque Colonie petites : circulaire, convexe, à bord régulier, lisse.</p>	 <p>Couleur : verdâtre sur Gélose nutritive (Pyocyanine). Odeur : florale Colonies larges : à bord irrégulier, rugueuses, bombée présentant des reflets métalliques.</p>
Coloration de Gram	 <p>Coccobacille à Gram -</p>	 <p>Bacille à Gram -</p>
Test d'oxydase Et Test de catalase	 <p>Catalase + oxydase -</p>	 <p>Oxydase + Catalase +</p>

<p>TSI</p>	 <p>Saccharose/lactose (-), glucose (+), H₂S (-), production du Gaz (-)</p>	 <p>Saccharose/lactose (-), glucose (+), H₂S (-), production du Gaz (-)</p>
<p>Citrate de Simmons</p>	 <p>Citrate de Simmons (+)</p>	 <p>Citrate de Simmons (+)</p>

VP/RM	 <p>VP (-) RM (-)</p>	 <p>VP (-) RM (-)</p>
Uréase	 <p>Uréase (-)</p>	 <p>Uréase (-)</p>
Indole	 <p>Indole (-)</p>	 <p>Indole (-)</p>
TDA	 <p>TDA (-)</p>	 <p>TDA (-)</p>

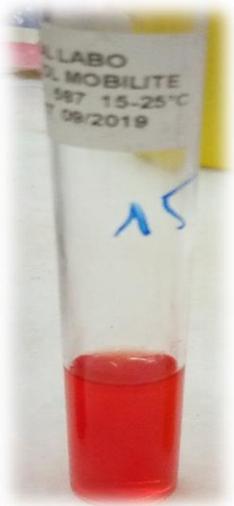
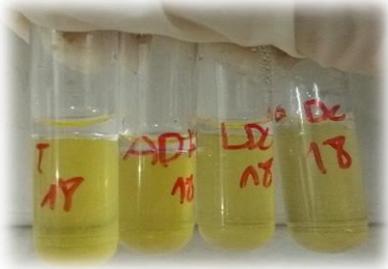
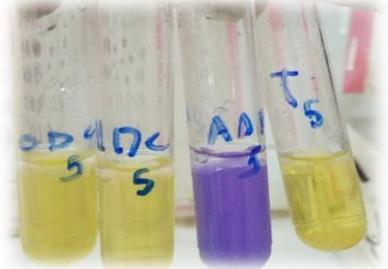
<p>Mannitol Mobilité</p>	 <p>Mannitol (-), Mobilité (-)</p>	 <p>Mannitol (+), Mobilité (+)</p>
<p>ADH, LDC, ODC</p>	 <p>ADH (-), LDC (-), ODC (-)</p>	 <p>ADH (+), LDC (-), ODC (-)</p>
<p>ONPG</p>	 <p>ONPG (-)</p>	 <p>ONPG (-)</p>



Tableau VIII : Résultats de la galerie classique chez *A.baumannii* et *P.aeruginosa*

	Gram	Oxydase	Catalase	Glucose	Lac/ Sac	H2S	Gaz	Citrate	VP/RM	Uréase	Indole	TDA	Mannitol	Mobilité	ADH	LDC	ODC	ONPG	Nitrate Réductase	
<i>A.baumannii</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+

Tableau IX : Lecture de la galerie Api 20e d' *A. baumannii*

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+



(+) : test positif

(-) : test négatif

II.5. Fréquence de bactéries isolées dans les différents services

L'environnement hospitalier constitue une niche écologique importante de microorganismes pouvant être un réservoir à partir du quelles différentes infections peuvent se développer (Zenati et al., 2016). Dans la présente étude, nous avons constaté que les différents services (néonatalogie, accouchement et bloc opératoire) ont une fréquence faible des souches d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* et sont donc moins présentes sur les surfaces qui entrent en contact fréquemment avec les patients (lits, évier, robinet, fenêtres) par rapport aux autres isolats bactériens. On peut voir d'après nos résultats qu'un taux assez bas soit 5,56 % (4 souches au total) parmi les 72 souches isolées représentent le pathogène environnementale opportuniste *Acinetobacter baumannii*.

Un taux de 11,11% (8 souches au total) parmi les 72 souches isolées représente le pathogène environnementale opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 6).

Le reste qui représente un taux 83,33% et donc 60 souches au total des 72 souches isolées représentent le reste de bactéries isolées.

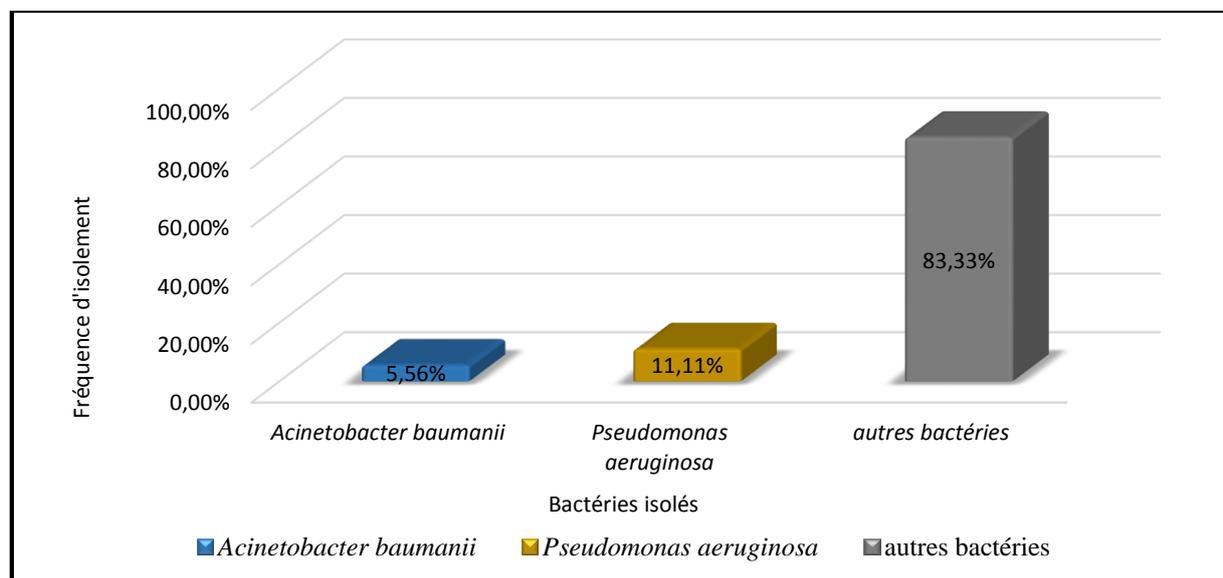


Figure 6 : Répartition des résultats selon les bactéries isolées

La flore retrouvée sur les surfaces dépend de plusieurs facteurs comme l'activité humaine qui entraîne un apport de microorganismes par le patient lui-même, par les soignants et par les visiteurs en particulier en l'absence d'un bio-nettoyage efficace (Méité et al., 2010).

Des travaux nationaux et internationaux ont rapporté la contamination par des souches d'*A. baumannii*, *P. aeruginosa* multi-résistantes de l'environnement hospitalier proche

des patients tels que, les draps, bordure du lit, les couvertures et des équipements médicaux. Ces souches ont une capacité de survie qui peut durer des mois sur des surfaces inanimées et sont fréquemment isolées des patients atteints d'infections nosocomiales (**Zenati et al., 2016 ;Touati et al., 2010**).

Ces isolats bactériens concernés par cette étude étaient répartis comme suit (**Tableau X**) :

- * Une souche d'*Acinetobacter baumannii* et donc un taux de 1,39 % a été retrouvée au niveau du service de néonatalogie au niveau d'un lit.
- * Deux souches d'*Acinetobacter baumannii* et donc un taux de 2,78 % a été retrouvée au niveau du service d'accouchement au niveau des lits
- * Une souche d'*Acinetobacter baumannii* et donc un taux de 1,39 % a été retrouvée au niveau du bloc opératoire. au niveau d'une table opératoire.
- * Cinq souches de *Pseudomonas aeruginosa* et donc un taux de 6,94 % a été retrouvée au niveau du service de néonatalogie au niveau de : lit, évier/robinet et fenêtre.
- * Deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* et donc un taux de 2,78 % a été retrouvée au niveau du service d'accouchement au niveau d'un lit et d'un évier.
- * Une souche de *Pseudomonas aeruginosa* et donc un taux de 1,39 % a été retrouvée au niveau du bloc opératoire au niveau d'un évier.

Tableau X : Répartition des bactéries isolées selon les services

	Nombre des bactéries isolées	Sites de prélèvement	Nombre et % de <i>A.baumannii</i>	Nombre et % de <i>P.aeruginosa</i>	Autres bactéries
Service de néonatalogie	39	Lits	1	2	37=51,39%
		Rideaux	0	0	
		Chariot	0	0	
		Potence	0	0	
		Evier/robinet	0	2	
		Sols	0	0	
		Mur	0	0	
		Fenêtres	0	1	
		Porte	0	0	
		Couveuses	0	0	
		Chaise	0	0	
		Biberon	0	0	
		Distributeur de savon	0	0	
		Table d'examination	0	0	
		Barboteur	0	0	
Service d'accouchement	27	Lit	2	1	15= 20,83%
		Porte	0	0	
		Fenêtre	0	0	
		Mur	0	0	
		Scopes	0	0	
		Evier/robinet	0	1	
		Sol	0	0	
		Table d'examination	0	0	
		Chariot	0	0	
			2,78%	2,78%	
Bloc opératoire	6	Evier/robinet	0	1	8= 11,11%
		Masque respiratoire	0	0	
		Porte	0	0	
		Table opératoire	1	0	
		Potence	0	0	
		Scopes	0	0	
		Respirateur électrique	0	0	
		Scialytique	0	0	
		Interrupteurs	0	0	
			1,39%	1,39%	
Total	72		4	8	60
%	100%		5,56%	11,11%	83,33%

Dans notre étude, seulement 4 souches d'*A. baumannii* ont été isolées. Ces résultats concordent avec les données d'une étude marocaine décrivant l'importance de cette espèce surtout en unité de soins intensifs (Elouennass et al., 2003) ou avec ceux de Debabza

(2015), où trois souches d'*A. baumannii* ont été isolées, exclusivement du service de réanimation et une souche a été isolée à partir de l'air et deux souches à partir des oreillers au niveau de l'hôpital de Tébessa.

En effet, il a été démontré qu'une humidité relative plus élevée favorise la survie d'*A. baumannii* (Weber *et al.*, 2010).

La contamination environnementale étendue par *Acinetobacter* a été démontrée dans de nombreuses épidémies. Les sites colonisés incluent les barrières de lit, les tables de nuit, les surfaces des ventilateurs, les éviers, l'équipement d'aspiration, les matelas, l'équipement de réanimation les rideaux, les élingues de levage du patient, les vadrouilles, les seaux, les poignées de porte, les stéthoscopes, les incubateurs, et les claviers d'ordinateur. La colonisation des équipements et des dispositifs des voies respiratoires a été courante. La fréquence de la contamination de l'environnement dans des situations épidémiques a été rapportée de 3% à 50%. La colonisation des mains du personnel soignant avec *Acinetobacter* a également été démontrée, où elle peut survivre sur le bout des doigts pour les 60 minutes (Weber *et al.*, 2010). Dans notre travail, la fréquence d'isolement d'*A. baumannii* est trop faible, Ainsi, le taux de contamination environnementale par cette bactérie est presque négligeable (Figure 6).

Ce taux est nettement inférieur à celui rapporté par Thom *et al.*, (2011) qui était 9,8%. Cette différence pourrait être le fait que, dans cette dernière étude, les prélèvements ont été réalisés, à partir des surfaces environnantes de patients colonisés ou infectés par des *A. baumannii* multi résistants, au cours d'une épidémie.

Par ailleurs, une grande variation de la fréquence de contamination de l'environnement a été rapportée, entre différentes études, elle peut être expliquée par plusieurs facteurs, y compris la cultivable du microorganisme, le degré d'excrétion par le patient, la méthode d'échantillonnage et la facilité de contamination ou la difficulté de nettoyage de l'environnement. Les différences méthodologiques dans la collecte et la culture des échantillons rendent les comparaisons entre les études, difficile, et dans certains cas le niveau réel de la contamination environnementale peut être sous-estimé (Otter *et al.*, 2011).

Nos résultats montrent aussi une prévalence de 11,11 % du microorganisme isolé *P. aeruginosa* (8/72) (Figure 6), Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Debabza, (2015) avec un taux de (11,44%). Cette fréquence pourrait être en partie expliquée par le fait

qu'elle peut résister aux désinfectants couramment utilisés en milieu hospitalier (**Orji et al., 2005**).

Elles sont aussi comparables avec ceux de **Nwankwo (2012)** où le prélèvement a été fait à partir de lavabos. Cette fréquence d'isolement pourrait être expliquée par le fait des conditions humides favorables à cette bactérie (**Oliveira et Damasceno, 2010**).

Dès l'occupation du lit, le linge est très rapidement contaminé : après 8 heures, voire même après deux heures d'occupation du lit, une prolifération bactérienne peut être observée, sous l'effet de la chaleur et de l'humidité. La contamination du linge varie suivant plusieurs facteurs comme le type de pièces de linge (drap supérieur, drap inférieur, alèse ou oreiller) (**Gaillon et al., 1996**), et l'état clinique des patients (colonisés ou infectés). Parmi Les bactéries rencontrées, on trouve fréquemment *A. baumannii* et *P. aeruginosa* (**Boyce et al., 1997**).

Nos résultats sont également comparables à ceux de **Gaillon et al., (1996)** qui ont rapporté que les oreillers sont parmi les pièces de literie les plus contaminées.

II.6. Antibiorésistance

Cette partie du travail concerne l'étude de la sensibilité et de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* vis-à-vis des antibiotiques.

❖ Chez *Pseudomonas aeruginosa*

D'après les résultats de la figure 7 et 8, les souche de *Pseudomonas aeruginosa* sont très sensibles aux Ciprofloxacine (CIP), Céfotazidime (CAZ), Imipénème (IMP), Gentamicine (GN) et la Colistine (CL) avec un taux de 100% ainsi qu'à l'Aztreonam (AZ) à 84,5% et à la Ticarcilline + acide calvulanique (TCC) à 62,5%.

Par contre ces souches ont une faible résistance a la Ticarcilline + acide calvulanique (TCC) à 12,5%.

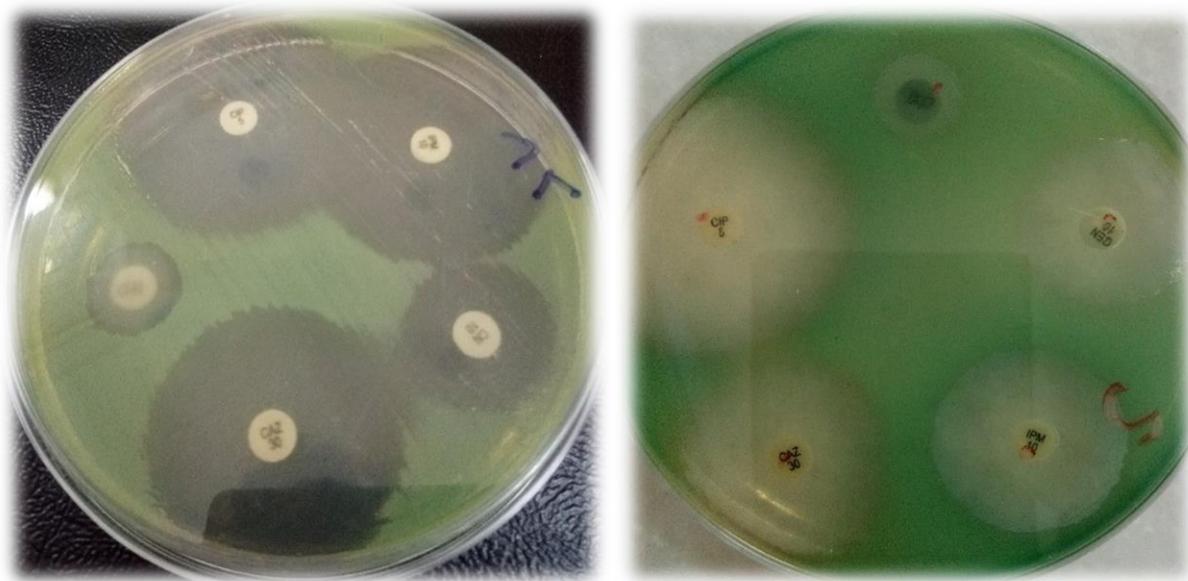


Figure 7 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez *Pseudomonas aeruginosa*. (photo originale)

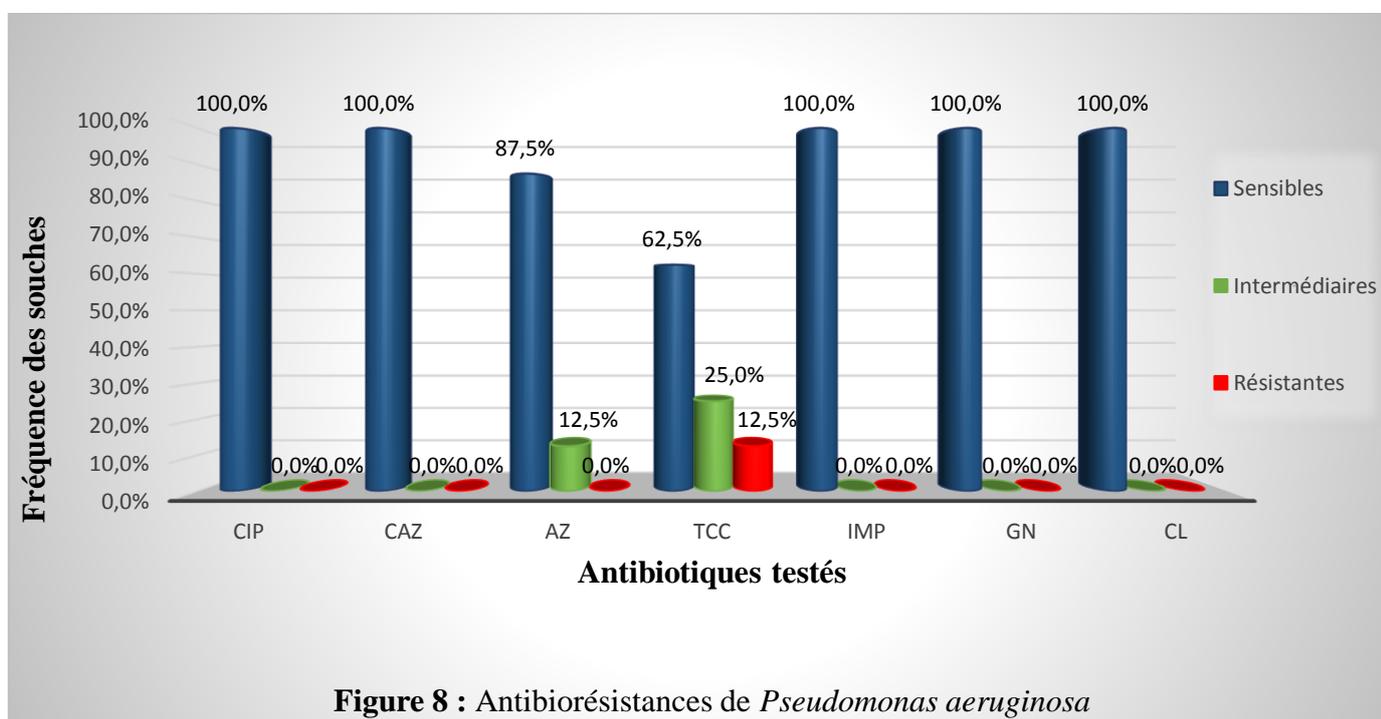


Figure 8 : Antibiorésistances de *Pseudomonas aeruginosa*

❖ **Chez *Acinetobacter baumannii***

D'après les résultats de la figure 9 et 11, quatre souches d'*Acinetobacter baumannii* sont très sensibles à la Colistine avec un taux de 100%.

Deux souches sont sensibles aux Ciprofloxacine (CIP), Céfotazidime (CAZ), Imipénème (IMP), Gentamicine (GN) avec un taux de 50%, et faiblement sensible à la Ticarcilline + acide calvulanique (TCC) avec un taux de 25%.

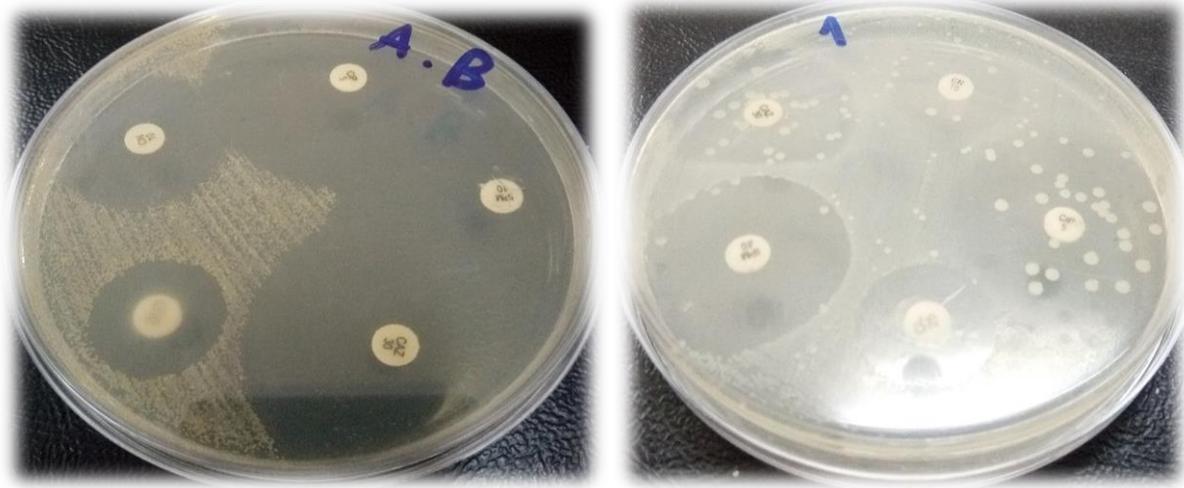


Figure 9 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez deux souches sensible d'*Acinetobacter baumannii* (photo originale)

Les deux autres souches sont résistantes aux Ciprofloxacine (CIP), Céfotazidime (CAZ), Imipénème (IMP) et Ticarcilline + acide calvulanique (TCC) avec un taux de 50%. (Figure 10 et 11).

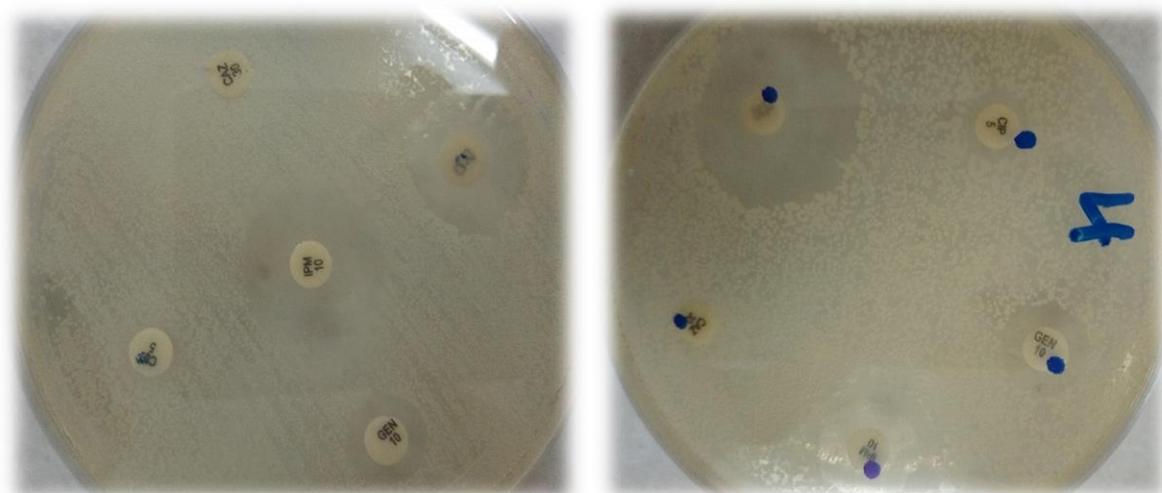
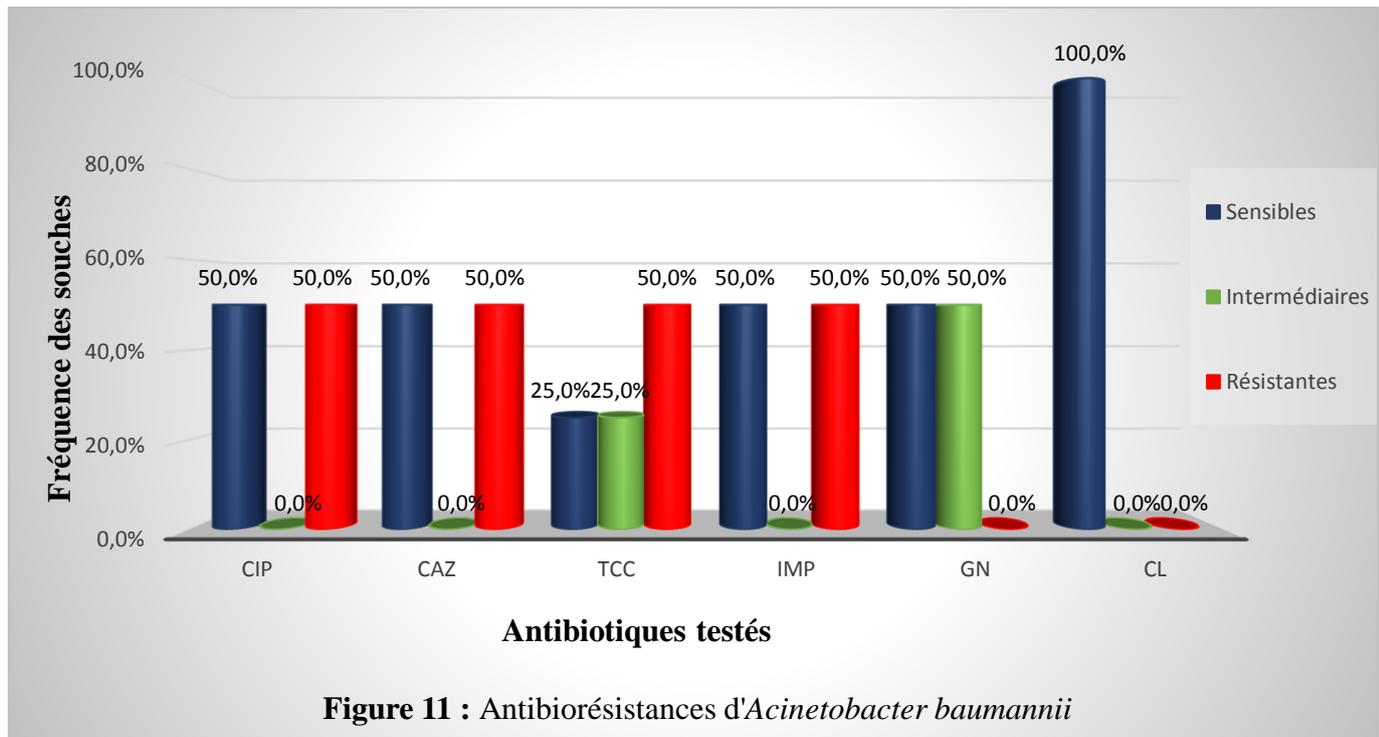


Figure 10 : Zones d'inhibition des antibiotiques testés chez deux souches résistant d'*Acinetobacter baumannii* (photo originale)



Les bactéries à Gram négatif non fermentants sont considérées comme des pathogènes opportunistes, émergents, multi-résistantes. Le plus souvent, elles sont responsables d'infections nosocomiales difficiles à contrôler et à traiter, en particulier dans les unités des soins intensifs (Peleg et al., 2008).

Les résultats du test de sensibilité aux antibiotiques (Figure 8) ont montré que les souches de *P. aeruginosa* présentent une faible résistance à un antibiotique : TCC (12,5%). Dans une étude algérienne menée par Touati (2013), portant sur des BGNnF, la TCC était inactive sur 20% des souches de *P. aeruginosa*.

Par ailleurs, nos souches montrent des taux de sensibilité élevés à d'autres antibiotiques, 100% pour (CAZ, CIP, GN, IMP, CL) et AZ de 87,5%. Ces résultats se rapprochent à ceux de Mérens (2011), des taux de sensibilité de *P. aeruginosa* de : 89,2 % pour la CAZ, 81,7 % pour IMP et se rapprochent de ceux de Debabza, (2015) avec des taux de 74,29% pour GN, 97,14% pour CIP et 100% pour AZ alors que pour la CAZ, la sensibilité est moindre avec un taux de 20%.

Nos résultats sont en dis-concordance avec ceux de Nwankwo (2012) dont les taux de sensibilité sont 35,7% pour GN, 21,4% pour CIP et 57,1% pour CAZ.

Les résultats du test de sensibilité aux antibiotiques (**Figure 11**) ont montré que les souches d'*A. baumannii* sont moyennement résistantes aux CIP, IMP, CAZ et TCC avec un taux de 50%. Cependant, **Liaïd (2012)** a trouvé des résultats complètement différents, où les taux de résistance à l'égard de : IPM et CIP, ont été respectivement : 80% et 97,14%.

Par contre, la CAZ qui était inactive sur la totalité des souches dans l'étude de **Liaïd, (2012) et de Debabza, (2015)**. La TCC présente un taux de résistance accrue à 100% dans l'étude de **Touati, (2013) et de Debabza, (2015)**.

La GN a conservé une bonne activité sur la moitié des souches d'*A. baumannii*, ce qui est différent des études menées par **Liaïd, (2012)** et par **Debabza, (2015)** dont le taux de résistance au GN est respectivement de 74,28% et de 66,67%.

Il faut noter que parmi les quatre souches étudiées d'*A. baumannii* et les huit souches de *P. aeruginosa*, la colistine présente un taux de sensibilité élevée de 100%. Ce résultat est comparable avec celui rapporté par **Savov et al., (2012)** dont des souches environnementales sont sensibles à la colistine.

Selon **Gounden et al., (2009)**, La colistine est un antibiotique acceptable pour le traitement des infections à *A. baumannii* lorsque l'organisme résiste aux autres antimicrobiens disponibles.

II.7. Test de synergie (Recherche de Bêta-lactamase à spectre élargi)

Le phénotype BLSE a été observé chez 2 souches d'*Acinetobacter baumannii* et chez les 8 souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Ce phénotype est confirmé par l'apparition d'une image de synergie entre les céphalosporines de 3^{ème} génération (CAZ, AZ) et (TCC), (**Figure 12 et 13**).

Nos résultats se rapprochent de l'étude de **Hakemi Vala et al., (2014)**, qui montrent que 15 des isolats de *P. aeruginosa* et 6 d'*A. baumannii* étaient positifs pour la production de BLSE.

Par contre, ces résultats ne concordent pas avec ceux de **Owlia et al., (2012)** dont des isolats d'*A. baumannii* résistants à la Céfotaxime étaient des producteurs de BLSE.

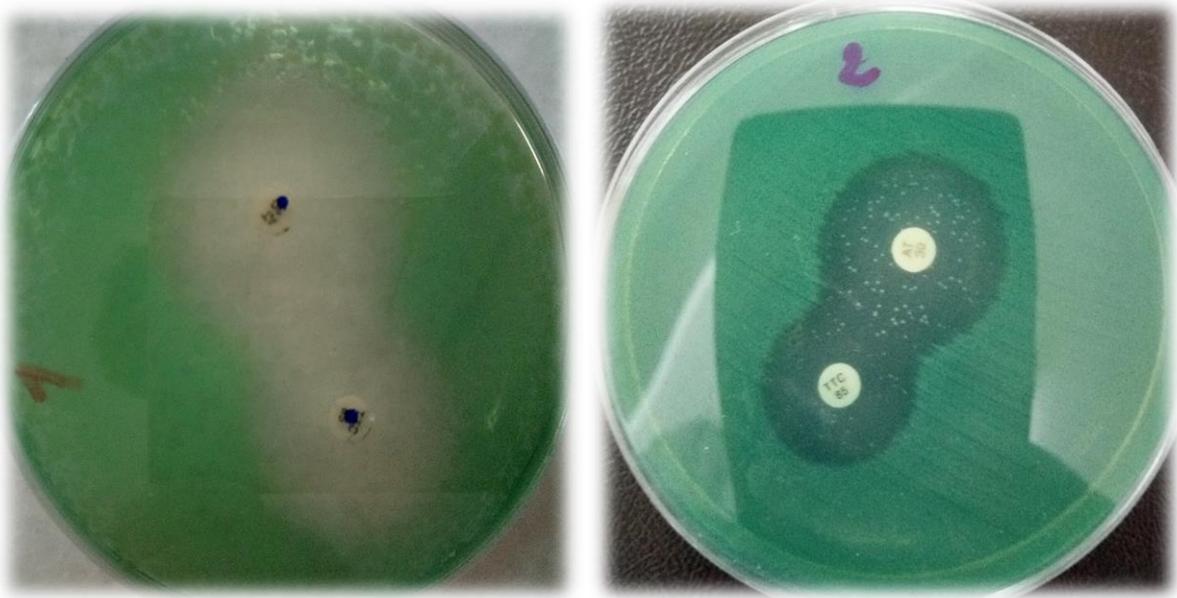


Figure 12 : Résultats de test de synergie (*Pseudomonas aeruginosa*).

(Photo originale)

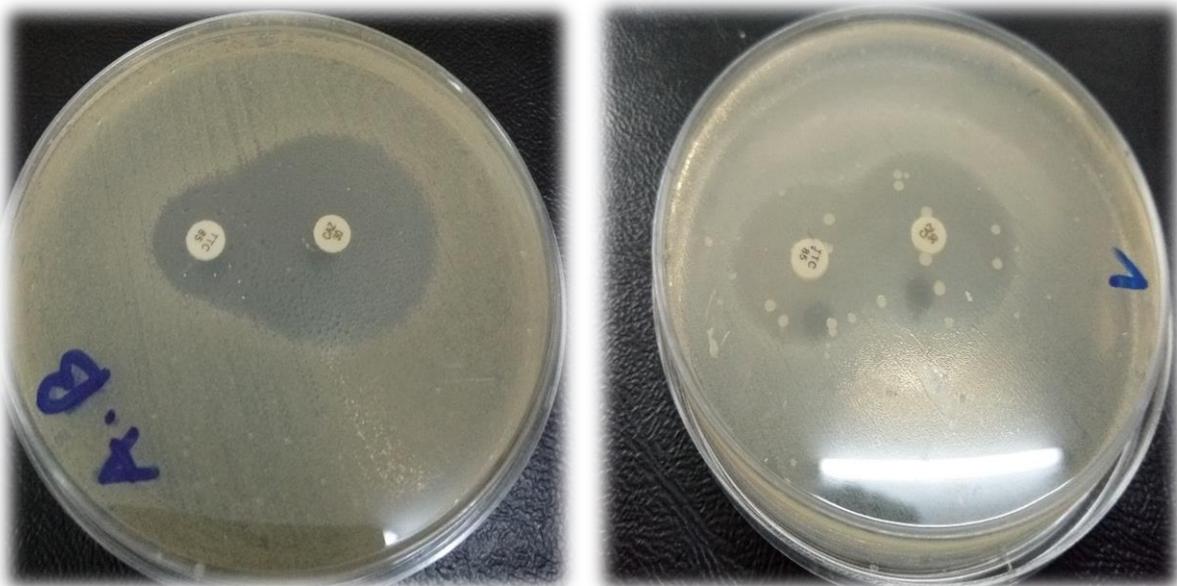


Figure 13 : Résultats de test de synergie (*Acinetobacter baumannii*).

(Photo originale)

II.8. Test de Hodge

Deux souches d'*Acinetobacter baumannii* ont montré une résistance à l'Imipénème, pour cela, le test de Hodge a été réalisé afin de détecter d'éventuelle production de carbapénèmase.

Le test de Hodge phénotypique a permis de mettre en évidence l'enzyme à activité carbapénèmase, et ce avec la formation d'échancrure au niveau du diamètre à l'intersection entre

la strie et la culture *d'E.coli* ATCC 25922 (sensible à tous les antibiotiques). Les deux souches sont révélées négatives en présentant une résistance à l'Imipénème.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par **Diene et al., (2013)** dont 3 isolats clinique des souches d'*A. baumannii* ont été résistantes à l'IMP et sont productrices de carbapénémase.

Selon une étude menée par **Kusradze et al., (2011)**, sur 12 souches d'*A. baumannii* provenant de différents pays (Belgique, Irak et la Géorgie), 6 se sont révélées résistantes à l'IMP et productrice de carbapénémase.

L'utilisation, souvent abusive, des antibiotiques favorise l'évolution des bactéries vers la résistance entraînant fréquemment des échecs thérapeutiques. **(Courvalin, 2007)**

L'exposition des populations aux antibiotiques est une condition indispensable à l'émergence de la résistance acquise aux antibiotiques chez les bactéries et à la diffusion des bactéries naturellement résistantes ou ayant acquis des résistances. **(Guillemot et Leclercq, 2005)**

Avec le contrôle et l'éviction de la porte d'entrée, l'antibiothérapie représente toujours la pierre angulaire du traitement curatif des infections bactériennes tant communautaires que nosocomiales. Or, le problème émergent de la (multi)résistance bactérienne aux antibiotiques et la diminution du nombre de nouveaux antibiotiques développés chaque année font craindre une diminution future de l'efficacité clinique des antibiotiques. En réponse à ce problème majeur de santé publique, des stratégies complémentaires ou alternatives à l'administration d'antibiotiques sont développées pour le traitement préventif et curatif des infections bactériennes. Ces nouvelles approches comprennent la lutte contre les facteurs de virulence (toxines, biofilm), la vaccination et la modulation de l'immunité de l'hôte, la protection ou la régulation du microbiote et la phagothérapie. **(Caballero et Figueiredo, 2018).**

Conclusion

CONCLUSION

Cette étude a permis de déterminer la fréquence d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* isolés au niveau du laboratoire d'hygiène à Blida et prélevés au niveau de l'hôpital de Boufarik entre février 2019 et mai 2019. L'identification biochimique ainsi que le profil de résistance aux antibiotiques ont été déterminés.

Les résultats de cette étude ont montré la place qu'occupent ces germes au sein de cette structure hospitalière. La fréquence d'isolement est assez faible pour *Acinetobacter baumannii* (5,56%) ainsi que pour *Pseudomonas aeruginosa* (11,11%).

Les sites les plus contaminés ont été les surfaces du proche environnement des patients et précisément ceux couramment touchés comme les lits, les lavabos et les fenêtres.

Les 4 souches d'*Acinetobacter baumannii* ont été isolées des 3 services (néonatalogie, accouchement, bloc opératoire) et retrouvée au niveau des lits et une table opératoire.

Tandis que les 8 souches de *Pseudomonas aeruginosa* également isolées des 3 services ont été retrouvée au niveau des lits éviers/robinets et fenêtre.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré que les souches de BGN isolées expriment à des degrés variables une sensibilité vis-à-vis des antibiotiques testés. Le taux de sensibilité chez les huit souches de *Pseudomonas aeruginosa* était comme suit : un taux de 100% pour : Ciprofloxacin (CIP), Céftazidime (CAZ), Imipénème (IMP), Gentamicine (GN) et la Colistine (CL). Un taux de 84.5% pour l'Aztreonam (AZ), et un taux de 62,5% pour la Ticarcilline+acide calvulanique (TCC). Par contre une faible résistance à la Ticarcilline+acide calvulanique (TCC) à 12,5%.

Pour les quatre souches d'*Acinetobacter baumannii* elles sont très sensibles à la Colistine (CL) avec un taux de 100%. Deux souches sont sensibles aux Ciprofloxacin (CIP), Céftazidime (CAZ), Imipénème (IMP), Gentamicine (GN) avec un taux de 50%, et faiblement sensible à la Ticarcilline + acide calvulanique (TCC) avec un taux de 25%.

Tandis que les deux autres souches sont résistantes aux Ciprofloxacin (CIP), Céftazidime (CAZ), Imipénème (IMP) et Ticarcilline + acide calvulanique (TCC) avec un taux de 50%.

Pour le test de synergie, le phénotype BLSE a été observé chez deux souches d'*Acinetobacter baumannii* et chez les huit souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

En ce qui concerne, le test de Hodge réalisé pour les deux souches d'*Acinetobacter baumannii*, il s'est révélé négatif pour les deux.

Ces résultats nous incitent à proposer des recommandations au sein des structures sanitaires :

- Renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des malades et de l'environnement hospitalier.
- Sensibilisation du personnel hospitalier concernant ce risque sous-estimé et de la nécessité d'une surveillance adéquate de ces germes dans les environnements hospitaliers Algériens.
- Adopter un programme de surveillance spécifique pour chaque service en tenant en considération les spécificités des services et leur capacité de contribuer aux infections.
- L'organisme hospitalier doit évaluer régulièrement la qualité du nettoyage et de la désinfection de l'environnement physique.

L'application de ces mesures de base permettra de contribuer à la limitation de la contamination de l'environnement hospitalier et ainsi de la survenue des infections nosocomiales.

En perspectives de cette étude, il serait intéressant de :

- Pouvoir approfondir l'aspect génétique des résistances étudiées chez ces BGN et identifier tous les supports génétiques des résistances associées aux β -lactamines pour la totalité des isolats,
- Optimiser les méthodes et les milieux de prélèvements pour les différents types de BGN afin d'améliorer la sensibilité et la précision des données.
- Identifier les relations entre les souches isolées d'un patient hébergeant ces BGN et celles isolées de son environnement par des études génétiques.

Des rapports prospectifs contrôlés sont nécessaires pour élucider correctement le rôle joué par la contamination des surfaces et de l'air (et de décontamination) dans la transmission des agents pathogènes nosocomiaux.

Références Bibliographiques

A

- **Antunes LCS, Visca P, Towner KJ. 2014.** *Acinetobacter baumannii: évolution d'un agent pathogène global. Pathogènes et maladies, 71 (3), 292–301.* doi: 10.1111 / 2049-632x.12125.
- **Asif M, Alvi I. A, & Rehman S. U. 2018.** *Insight into Acinetobacter baumannii: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. Infection and Drug Resistance ; 11: 1249- 1260.* doi:10.2147/idr.s166750
- **Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. 2000.** Bactériologie clinique 2ème édition.
- **Amazian K, Rossello J, Castella A, Sekkat S, Terzaki S, Dhidah L, Abdelmoumène T, Fabry J, et les membres du réseau NosoMed. 2010.** Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *East Mediterr Health J* 16: 1070-1078.

B

- **Bousseboua H. 2005.** Éléments de microbiologie : Programme de graduation : biologie, médecine, pharmacie, chirurgie dentaire, sciences vétérinaires, sciences alimentaires, agronomie. 2ème édition. Edition Campus-Club. 304p.
- **Bernaud G, Benzerara Y, Gravisse J, Raskine L, Sanson-Le pors M J, Labia R, Arlet G, 2004.** Selection during cefepime treatment of a new cephalosporinase variant with extended spectrum resistance to cefepime In an Enterobacter aerogenes clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 1040-1042.
- **Bagge N, Ciofu O, Hentzer N, Campbell J I, Givskov M, Hoiby N, 2002.** Constitutive high expression of chromosomal B-lactamase in Pseudomonas aeruginosa caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 3406-11.
- **Bergogne-Bérézin, E. 2008.** Importance of Acinetobacter spp. In Acinetobacter Biology and Pathogenesis, Schneiders T, Findlay J, and G.B. Amyes S, eds. (Springer US), p 106.
- **Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T. 1997.** Environmental contamination due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus: possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol ; 18: 622-9.*

C

- **Cady, A. 2006.** Etude génétique de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Étude Université de Nantes faculté de pharmacie.12-13, 83P.
- **Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. 2002.** Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clin Microbiol Infect*; 8 (11): 687-93.
- **Cavallo J.D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E, 2004.** Bêtalactamines. *EMC-Maladies infectieuses*. 1 : 129-202.
- **Clavilier L, Hervieu F, Letodé O, 2001.** Gènes de résistance aux antibiotiques et plantes transgéniques. *Edition INRA*. P35.
- **Conly J, Pitout J, Dalton B, Sabuta D, 2011.** La NDM-1 : summum de la résistance aux antimicrobiens. Centre de collaboration nationale des maladies infectieuses. 33:1.
- **Courvalin P, 2007.** La résistance des bactéries aux antibiotiques: Connaissances de mécanisme biochimiques et génétiques. *Bull. Académie Vétérinaire*. France - Tome 161 - N°1. 7-14.
- **Caballero M-J, Figueiredo S, 2018.** Traitement d'une infection bactérienne: quelles alternatives aux antibiotiques? *MAPAR*. P 105-114.
- **Cavallo J-D, Antoniotti G, Baffoy N, Guignement-Coudrais S, Hajjar J, Horn C, LE Gouhir C, LE Guyader A, Lejeune B, Mounier M, Salomon V. 2002.** Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN. 77P.
- **Cholley P, Thouverez M, Gbaguidi-Haore H, Bertrand X, Talon D. 2013.** Application des méthodes de typage génomique Au laboratoire d'hygiène. Elsevier Masson SAS.
- **Carpentier JP, Morillon M, Petrognani R, Cavallo JD. 2003.** Infections à bacille pyocyanique. *Encycl Med Chir (Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses*,8-025-B-50, ,23p.

D

- **Denis F, Poly M.C, Martin C, Cattoir V, 2016.** Bactériologie médicale, techniques usuelles .ELSEVIER MASSON, Cedex. P346-347.

- **Denis F, Poly M.C, Martin C, Bingen E. et Quentin R. 2007.** Bactériologie médicale, technique usuelles. Masson, Cedex ; 333-335.
- **Doughari H.J, Ndakidemi P.A, Human I.S, Benade S, 2011.** *Ecologie, biologie et pathogénèse d'Acinetobacter spp : Un aperçu. Microbes and Environments, 26 (2), 101-112.* doi: 10.1264 / jsme2.me10179
- **Delbos, V. 2012.** *Manifestations cliniques et traitements des infections à Acinetobacter baumannii. Revue Francophone Des Laboratoires, (441), 59–65.* doi: 10.1016 / s1773-035x (12) 71414-4
- **Delarras, C. 2007.** *Pseudomonas et ex-Pseudomonas.* Dans : Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition médicales internationales, Paris : Technique Et Documentation Lavoisier, 1 : p339-340.
- **Decré D, 2012.** *Acinetobacter baumannii et résistance aux antibiotiques. Un modèle d'adaptation. Revue Francophone des Laboratoires 441, 43-52.*
- **Diene S.M, Automne B, Kempf M, Fenollar F, Sow K, Niang B, Rolain J.M, 2013.** *Emergence du gène codant pour la carbapénémase OXA-23 dans les isolats cliniques d'Acinetobacter baumannii multirésistants de l'hôpital principal de Dakar, au Sénégal. Journal international des maladies infectieuses, 17 (3), p 209 – 210.* doi: 10.1016 / j.ijid.2012.09.007
- **Dedabza M, 2015.** *Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.*
- **d'Alessandro E,** « Prévenir le risque infectieux à l'hôpital ? », *Anthropologie & Santé* [En ligne], 4 | 2012, mis en ligne le 28 mai 2012, consulté le 01 juillet 2019.
- **Diarra F. 2009.** *Fréquence d'isolement des Pseudomonas au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2008. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali.*

E

- **Espinal P, Martí S, Vila J. 2012.** *Effet de la formation de biofilm sur la survie d'Acinetobacter baumannii sur des surfaces sèches. Journal of Hospital Infection, 80 (1), 56–60.* doi: 10.1016 / j.jhin.2011.08.013
- **Elouennass M, Bajou T, Lemnouer AH, Foissaud V, Hervé V, Baaj AJ. 2003.** *Acinetobacter baumannii : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire*

d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. Médecine et maladies infectieuses ; 7 (33): 361-364.

- **El ouadnassi S, Boughalem M**, «L'infection à Pseudomonas en milieu de réanimation ». Service de Réanimation. Hôpital Militaire Avicenne. Marrakech, Faculté de Médecine et de Pharmacie - Marrakech Thèse n° / 2009.

F

- **Fuentefria DB, Ferreira AE, Corção G. 2011.** Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water. Are they genetically related ? *J Environ Manage* ; 92 :250-5.
- **Flandrois J-P.1997.** Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon, Lyon. P207.
- **Figueiredo S, 2011.** *Acinetobacter* spp. et réservoir de gènes de carbapénèmases. Médecine humaine et pathologie. Thèse de doctorat. Université Paris Sud - Paris XI. P 40.
- **Fki H, Yaich S, Jdidl J, Karray A, Kassis M, Damak J, 2008.** Epidémiologie des infections nosocomiales dans les hopitaux de SFAX. *Revue Tunisienne Infectiol* ; 2 :22-31p.

G

- **Gagne S. 2018.** Étude des mécanismes de virulence du pathogène nosocomial *Acinetobacter baumannii*. Thèse de doctorat. Infectiologie. Université Claude Bernard Lyon 1, France. P 16.
- **Giannouli, M., Antunes, LC, Marchetti V, Triassi M, Visca P, et Zarrilli R. 2013.** *Traits liés à la virulence des souches épidémiques d'Acinetobacter baumannii appartenant aux lignées clonales internationales I-III et aux génotypes émergents ST25 et ST78. BMC Infectious Diseases, 13 (1).* doi: 10.1186 / 1471-2334-13-282
- **Galy E, Verdeil X. 2017.** Entretien des locaux dans les établissements de santé et établissements médico-sociaux. Recommandations de bonnes pratiques. CPIAS Occitanie / CPIAS Nouvelle Aquitaine. P 14.
- **Gerischer U, 2008.** *Acinetobacter molecular microbiology.* Caister Academic Press. P 324.
- **Guillemot D, Leclercq R, 2005.** *Impact de l'exposition des populations sur le risque de résistance bactérienne. Médecine et Maladies Infectieuses, 35, S212–S220.* doi:10.1016/s0399-077x(05)83004-5
- **Gaillon S, Nagorzanski G, Buisson Y, 1996.** Le linge peut-il avoir des propriétés antibactériennes ? *Evaluation d'un nouveau procédé. Hygiène S; 14 : 50-54.*

- **Gounden R, Bamford C, Zyl-Smit R. v, Cohen K, Maartens G. 2009.** Safety and effectiveness of colistin compared with tobramycin for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *BMC Infectious Diseases*. 9 (26):1-6.
- **Guillaume PY., 2004.** La microbiologie. Les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques.

H

- **Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. 2012.** *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*; 3:243–50. doi:10.4161/viru.19700.
- **Hawkey, P., and Bergogne-Berezin, E. 2006.** *Acinetobacter* spp. In *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*, Gillespie S.H, and Hawkey P.M, eds. (John Wiley & Sons, Ltd), pp. 231–244.
- **Hafiane A. et Ravaoarinoro M. 2008.** « Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose ». *Elsevier Masson, Medecine et maladies infectieuses.* ; 38 : 238-47.
- **Héritier C, Poirel L, Fournier P-E, Claverie JM, Raoult D, Nordmann P, 2005.** Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother* 49(10): 4174–4179.
- **Hakemi Vala M, Hallajzadeh M, Hashemi A, Goudarzi H, Tarhani M, Sattarzadeh Tabrizi M, Bazmi F, 2014.** Detection of Ambler class A, B and D β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from burn patients. *Annals of Burns and Fire Disasters* ; 27(1) : 8–13.
- **Hajjar H, Hartemann P, Luu-Duc D, Nicolle MC, Perraud M, Bertrou A, Cetre JC, Chapuis C, Guignement S, Fabry J. 2000.** Vigilance environnementale : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. *HYGIENES*; VIII(3) : 139-179.
- **Husson MO, Izard D, Hansen W. 1994.** *Pseudomonas* et genres apparentés. In : **Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet S**, editors. *Manuel de bactériologie clinique Paris* : Elsevier.; 3:1141–63.

J

- **Jung J, Park W. 2015.** *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* ; 99(6):2533-48.

- **Jaggi N, Sissodia P, Sharma L. 2012.** *Acinetobacter baumannii* isolates in a tertiary care hospital: Antimicrobial resistance and clinical significance. *J Microbiol Infect Dis* ; 2(2) :57–63.
- **Japoni A, Farshad S, Albozi A. 2009.** *Pseudomonas aeruginosa*: Burn infection, Treatment and Antibacterial Resistance. *IRCMJ* ; 11:244-53.
- **Joly-Guillou ML, 2006.** *Acinetobacter*, Antibiogramme. Paris 2-7475-0907-5.

K

- **Kurcik-Trajkowska B. 2010.** *Acinetobacter spp.* - A Serious Enemy Threatening Hospitals Worldwide. *Maced J Med Sci* ; 2(2) :157–62.
- **Kakupa DK, Muenze P.K, Byl B, & Dramaix M. 2016.** *Etude de la prévalence des infections nosocomiales et des facteurs associés dans les deux hopitaux universitaires de Lubumbashi, République Démocratique du Congo: cas des Cliniques Universitaires de Lubumbashi et l'Hôpital Janson Sendwe.* *Pan African Medical Journal*, 24.doi:10.11604/pamj.2016.24.275.7626
- **Khalilzadeh P. 2009.** Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse de doctorat d'Université de Paul Sabatier - Toulouse III. Toulouse.
- **Kramer A, Schwebke I et Kampf G. 2006.** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces ? *A systematic review.* *BMC Infectious Diseases*; 6 (130): 8 p.
- **Kusradze I, Diene SM, Goderdzishvili M., et Rolain J.-M. 2011.** Détection moléculaire des gènes d'OXA carbapénémase dans des isolats d'*Acinetobacter baumannii* multirésistants d'Irak et de Géorgie. *Journal international des agents antimicrobiens*, 38 (2), 164–168. doi: 10.1016 / j.ijantimicag.2011.03.021

L

- **Le Gallou F, Lepelletier D. 2017.** Contrôles particulières et microbiologiques de l'air et contrôles microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé. *EMC - Biologie médicale* ; 12(4):1-11
- **Liaqid A. 2012.** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister. Option : Maitrise de la qualité microbiologique et du développement microbien. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, 95 p.

M

- **Manchanda V, Sanchaita S, Singh N. 2010.** Multidrug resistant Acinetobacter. *J Glob Infect Dis* ; 2(3):291-304.
- **Mérens A, Jaut P, Bargues J.D, Cavallo. 2013.** Infection à *pseudomonas aeruginosa*. *EMC- Maladies infectieuses* ; 12: 1166-8598.
- **Murray P R, Pfaller M A, Rosenthal K S, 2005.** Médical microbiology, 5th ed, StLouis, Missouri.
- **Mugnier PD, Poirel L, Nordmann P, 2009.** Functional analysis of insertion sequence ISAbal, responsible for genomic plasticity of Acinetobacter baumannii. *J Bacteriol*, 191(7) :2414-2418.
- **Merad B. 2014.** Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. . Algérie. P 39.
- **Méité S, Boni-cissé C, Monemo P, MlanTonoa A.P, Faye-Ketté H, Dosso H. 2010.** Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau Tertiaire : exemple du CHU de Yopougon, abidjan, Côte Divoire. *International journal of pharmacy and biological science*.11(1) :73-81.
- **Mérens A, Delacour H, Plésiat P, Cavallo J.-D, & Jeannot K. 2011.** *Pseudomonas aeruginosa et résistance aux antibiotiques. Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011(435), 49–62.doi:10.1016/s1773-035x(11)71102-9
- **Muller C., Plesiat P., and Jeannot K. 2011.** A two-component regulatory system interconnects resistance to polymyxins, aminoglycosides, fluoroquinolones, and beta-lactams in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 1211-1221.
- **Moskowitz S.M, Ernst R.K, and Miller S.I. 2004.** PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *J Bacteriol* 186: 575-579.

N

- **Nordmann Patrice., Poirel Laurent., Rodriguez-Martinez José-Manuel., Plésiat Patrick., 2009.** Naturally Occurring Class A β -Lactamases from the Burkholderia cepacia Complex. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(3): 876–882.
- **Naas T, Fortineau N, Nordmann P. 2008.** Diffusion de *Acinetobacter baumannii* multirésistant dans les établissements de santé. *Hygiènes* ; XVI: 481-489

- **Nwankwo E. 2012.** Isolation of pathogenic bacteria from fomites in the operating rooms of a specialist hospital in Kano, North-western Nigeria. *Pan African Medical Journal*; 12 (90): 10 p.
- **Nation R.L, and Li J. 2009.** Colistin in the 21st century. *Curr Opin Infect Dis* 22: 535-543.

O

- **Oulymata G. 2007.** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université cheikh anta diop de dakar. Faculté de médecine et de pharmacie.
- **Owlia P, Azimi L, Gholami A, Asghari B, Lari A.R, 2012.** ESBL and MBL Mediated Resistance in *Acinetobacter baumannii* : a global threat to burnt patients. *InfezMed* ; 20(3):182-7.
- **Ouendo E-M, Saizonou J, Degbey C, Glele Kakai C, Glele Y, Makoutode M. 2015.** Gestion du risque infectieux associé aux soins et services au Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(1): 292-300.
- **Otter JA, Yezli S, French GL, 2011.** The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection Control and Hospital Epidemiology* ; 32(7): 687-699.
- **Oliveira AC, Damasceno QS, 2010.** Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria: a review. *Rev Esc Enferm USP* ; 44 (4):1112-7.
- **Orji MU, Mbata TI, Kalu OU. 2005.** Isolation of pathogenic bacteria from hospital staff apparel in Nigeria. *Malawi Medical Journal*; 17(4): 128-130.

P

- **Pailhoriès H, Belmonte O, Kempf M, Lemarié C, Cuziat J, Quinqueneau C, Ramont C, Joly-Guillou ML, Eveillard M. 2015.** Diversity of *Acinetobacter baumannii* strains isolated in humans, companion animals, and the environment in Reunion Island: an exploratory study. *Int J Infect Dis.* 37:64-9.
- **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008.** *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* ; 21(3): 538–582.

- **Pecastaings S. 2010.** Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux minérales naturelles. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
- **Philippon A, Arlet G, Jacoby G A. 2002.** Plasmid-determined AmpC-type B-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1-11.
- **Pourriat JL, Martin C, 2005.** Principe de réanimation chirurgicale. Edition ARNETTE. P298.
- **Poza M, Gayoso C, Gómez MJ, Rumbo-Feal S, Tomás M, Aranda J, Fernández A, Bou G. 2012.** Exploring bacterial diversity in hospital environments by GS-FLX titanium pyrosequencing. *PLOS ONE* ; 7(8) : e44105.10 p.

R

- **Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. 2012.** *The Acinetobacter baumannii Oxymoron: Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. Frontiers in Microbiology ; 3:148. doi:10.3389/fmicb.2012.00148*
- **Rodriguez-Villalobos H, Struelens M.J, 2006.** Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation.* Edition Masson. 15 (3) : 205-213.
- **Rahal K, Benslimani A, Tali-Maamar H, Missoum M.F.K, Aboun A, Ammari H.** la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 7^{ème} Edition 2014.

S

- **Segal H, Garny S, Elisha BG, 2005.** Is ISABA-1 customized for *Acinetobacter* ? *FEMS Microbiol Lett*, 243(2):425-429.
- **Sinha Mahua H, Srinivasa, R. Macaden, 2007.** Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med.* P 63-67.
- **Saouide el ayne N, Echchelh A, Chaouch A, Auajjar N, Hamama S, Soulaymani A. 2014.** Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales : surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital el IDRISSE de Kenitra - Maroc. *European Scientific Journal* ;10(9) :238-247.

- **Saussereau E. 2013.** Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d'une infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans le cadre de la mucoviscidose : efficacité et innocuité. Thèse de doctorat d'Université Pierre et Marie Curie. Paris VI.
- **Savov E, Mihaylova G, Petrov N, Borisova M, Triphonova A, Kjoseva E, Gala JL, Ireng L, Grigorov D, Zagorchina A. 2012.** Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* infections in multiprofile hospital. *Trakia Journal of Sciences* ; 10(2): 59-64.

T

- **Touati, M. 2013.** *Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba*, Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Faculté des Sciences Département de Biochimie, Algérie.
- **Toussaint, A. et Merlin, C. 2002.** *Les éléments mobiles comme combinaison de modules fonctionnels. Plasmid, 47 (1), 26–35.* Doi : 10.1006 / plas.2001.1552
- **Toure F, 2004.** Résistance aux bêta-lactamines de souches bactérienne isolées d'hémoculture au CHU A.LE DANTEC. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. P: 29-40.
- **Trifi A, Abdellatif S, Oueslati M, Zribi M, Daly F, Nasri R, Mannai R, Fandri C, Ben Lakhal S. 2017.** Infections nosocomiales : état des lieux dans un service de réanimation. *La tunisie Medicale* ; 95 (03) : 179-184
- **Touati A., Zenati K., Brasme L., Benallaoua S. et De Champs C. 2010.** Extended-spectrum b-lactamase characterisation and heavy metal resistance of Enterobacteriaceae strains isolated from hospital environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* 75: 78-9.
- **Thom KA, Johnson JK, Lee MS, Harris AD. 2011.** Environmental contamination due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* surrounding colonized or infected Patients. *Am J Infect Control* ; 39 (9): 711-715.

V

- **Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Nemeč A, Kämpfer P, and Wauters G. 2011.** *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods**. 714–738.
- **Van Alst N.E, Wellington M, Clark V.L, Haidaris C.G, and Iglewski B.H, 2009.** Nitrite reductase NirS is required for type III secretion system expression and virulence in the

human monocyte cell line THP-1 by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 77: 4446-4454.

- **Vila J, Marti S, Sanchez-Céspedes J. 2007.** Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*; 59 (6): 1210-5.

W

- **Weber, DJ, Anderson, D. et Rutala, WA. 2013.** *Le rôle de l'environnement de surface dans les infections associées aux soins de santé. Opinion actuelle dans Infectious Diseases*, 26 (4), 338–344. doi: 10.1097 / qco.0b013e3283630f04
- **Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, Huslage K, Sickbert-Bennett E. 2010.** Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: Norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *American Journal of Infection Control*; 38(5) (Suppl 1): S25-33.
- **Wolfgang MC, Kulasekara BR, Liang X, Boyd D, Wu K, Yang Q, Miyada CG, Lory S. 2003.** Conservation du contenu du génome et des déterminants de la virulence parmi les isolats cliniques et environnementaux de *Pseudomonas aeruginosa*. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 100 (14), 8484–8489. doi: 10.1073 / pnas.0832438100

Y

- **Yala, D. Merad, A.S. Mohamedi, D. Ouar Korich M.N. 2001.** Médecine du Maghreb 2001 n°91

Z

- **Zenati K, Touati A, Bakour S, Sahli F, Rolain JM. 2016.** Characterization of NDM-1 and OXA-23 producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in hospital environment in Algeria. *J Hosp Infect* ; 92: 19-26.

Annexes

Matériels non biologique

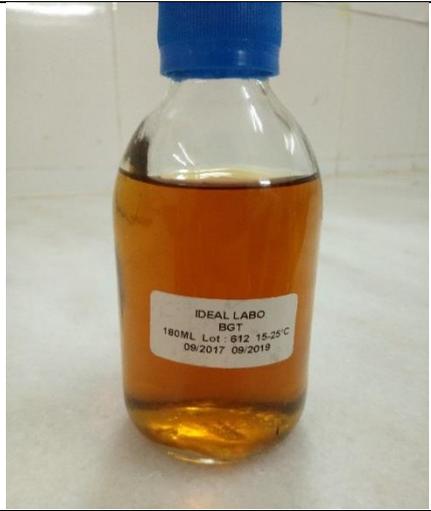
1. Verreries

- * Api 20E
- * Boite pétrie
- * Ecouvillons
- * Lames et lamelles
- * Pince métallique
- * Pied à coulisse
- * Pipette pasteur stérile
- * Portoir
- * Tubes à essai stérile
- * Tubes sec

2. Appareillage

- * Etuve
- * Bec benzène
- * Microscope optique
- * Autoclave

3. Milieu de culture

Milieu	Composition g/l	Photos
Milieu BGT	<ul style="list-style-type: none">– Peptone de caséine.....20– Extrait de viande.....2– Extrait de levure.....1– Phosphate dipotassique.....3,4– Phosphate monopotassique.....0,2– Glucose.....4– pH.....7,1	

<p>Gélose nutritive</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone.....10 - Extrait de viande.....3 - Extrait de levure.....3 - Chlorure de sodium.....5 - Agar.....18 - pH.....7,3 	
<p>Hektoen</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone pepsique de viande.....15 - Extrait de viande.....3 - Extrait de levure.....3 - Chlorure de sodium.....5 - Sels biliaires.....4 - Salicine.....2 - Lactose.....12 - Saccharose.....12 - Fuchsine acide.....0,1 - Bleu de bromothymol.....0,065 - Agar.....18 - pH.....7,3 	
<p>Milieu Muller-Hinton</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Hydrolysate de Caséine.....17,5 - Extrait de viande.....3 - Amidon.....1,5 - Agar.....16 - pH.....7,3 	

4. Milieu d'identification

- * TSI (Triple Sugar Iron)
- * Mannitol-Mobilité
- * Citrate de Simmons
- * Clark et Lubs
- * Urée Tryptophane
- * Bouillon nitraté
- * La lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC), l'arginine dihydrolase (ADH) et Témoin.

5. Réactifs

- * Kovacs
- * TDA (tryptophane dysaminase)
- * Vogue-Proskauer 1 (VP 1)
- * Vogue-Proskauer 2 (VP 2)
- * Rouge de méthyle
- * Nitrate réductase 1 (NR 1)
- * Nitrate réductase 2 (NR 2)

6. Les solutions et les disques imprégnés

- * Violet de Gentien + lugol + fuschine + alcool (pour la coloration de Gram)
- * L'eau oxygénée
- * L'eau distillé stérile
- * L'eau physiologique
- * L'huile de vaseline
- * L'huile à immersion
- * Poudre de zinc
- * Disque d'oxydase
- * Disques d'ONPG
- * Disques d'antibiotiques

Tableau de lecture de la galerie Api 20E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incoloré	jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
QDC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
[CIT]	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (3)
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incoloré / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	jaune	IDA / immédiat marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	incoloré vert pâle / jaune	JAMES / immédiat rose
[VP]	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	incoloré / rose pâle	VP 1 + VP 2 / 10 min rose / rouge (5)
[GEL]	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmnose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	

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