

MAST.BIO.232

03

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
et Sciences de la Terre et de l'Univers

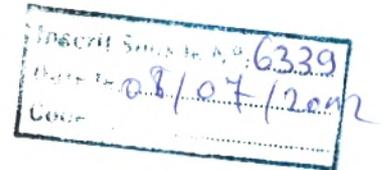
Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie**

Option : Microbiologie

Thème :



***Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à  
Gram négatif non fermentants aux antibiotiques :  
cas de la colistine en réanimation***

Présenté par :

***Melle RABHI Fatima***

Devant le jury composé de :

Mme BOUCHERIT Z

Mme BOUBLENZ A L

Mr DRISSI M



Président

Examineur

Promoteur

***Année universitaire : 2011-2012***

MAST-BIO-232

03

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
et Sciences de la Terre et de l'Univers

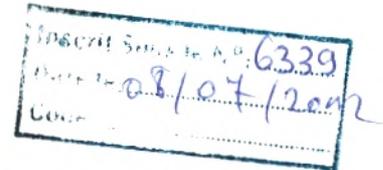
Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie**

Option : Microbiologie

Thème :



***Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à  
Gram négatif non fermentants aux antibiotiques :  
cas de la colistine en réanimation***

Présenté par :

***Melle RABHI Fatima***

Devant le jury composé de :

Mme BOUCHERIT Z

Mme BOUBLENZA L

Mr DRISSI M



Président

Examineur

Promoteur

***Année universitaire : 2011-2012***

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie**

Option : Microbiologie

Thème :

***Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à  
Gram négatif non fermentants aux antibiotiques :  
cas de la colistine en réanimation***

Présenté par :

***Melle RABHI Fatima***

Devant le jury composé de :

Mme BOUCHERIT Z

Mme BOUBLENZA L

Mr DRISSI M



Président

Examinateur

Promoteur

*Année universitaire : 2011-2012*

## **Remerciements**

*Je tiens tout d'abord à remercier vivement le directeur de ce mémoire, Monsieur le promoteur, DRISSI M., maître de conférences à l'université Tlemcen pour m'avoir accueillie au sein de son équipe de recherche et m'avoir fait confiance. Il m'a guidé et conseillé pendant ces mois et son assistance aussi bien matérielle que morale m'a permis de faire ce mémoire dans de bonnes conditions. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance à Madame BOUCHERIT Z., Maître de Conférences à l'Université Abou Bekr Belkaid et directrice du laboratoire «Antibiotiques, Antifongiques : physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques », de m'avoir permis de réaliser ce travail au sein de son laboratoire. Je la remercie infiniment d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

*J'adresse mes plus vifs remerciements à Madame BOUBLENTA L., Maître de conférences à l'Université Abou Bekr Belkaid, pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

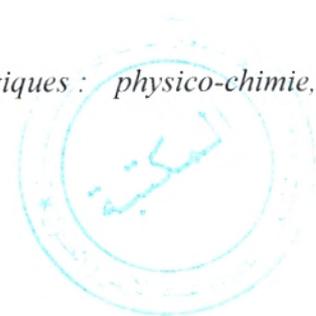
*Un grand merci à tout le personnel que j'ai côtoyé au laboratoire durant ce mémoire et qui m'ont apporté leur soutien individuel et commun.*

*Je remercie également Melle Ayed A, qui ma aidé et soutenue dans ce mémoire.*

***Je tiens également à remercier***

*Les techniciens du laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques : physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques ».*

*Mme BENHADDOUCHE R, chef du service de réanimation.*



# *Dédicace*

*Je dédie cet humble mémoire*

*A*

*Mes parents, je les remercie de m'avoir bien aidé dans mon parcours scolaire et leur collaboration*

*Merci de m'avoir toujours soutenue dans les moments durs et d'avoir toujours cru en moi. Je vous aime tendrement et infiniment.*

*Mes deux sœurs Latifa et Wissem,  
Parce que vous êtes les sœurs parfaites qui ont toujours rempli leur rôle. Au temps passé à m'écouter, à me comprendre et me soutenir.*

*Mon unique frère Mohamed qui lui aussi ma soutenue moralement.*

*Ma grande mère ainsi que mes oncles et tantes pour leurs encouragements et toute ma famille*

*Mes amies Amel, Asma, Latifa, Naila, Sarra et Soumia.*

# Résumé

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont des pathogènes opportunistes responsables essentiellement d'infections nosocomiales. Le traitement de ces infections est souvent difficile, de par leur résistance naturelle et acquise à de nombreux antibiotiques. Un total de 44 souches de bacilles à Gram négatif non fermentants (27 *Acinetobacter baumannii* et 17 *Pseudomonas aeruginosa*) ont été isolés à partir du service de réanimation au niveau du CHU de Tlemcen. L'étude de la résistance *in vitro* de ces germes aux antibiotiques a révélé que les souches d'*Acinetobacter baumannii* présentent des taux élevés de résistance vis-à-vis de la plupart des molécules testées : ceftazidime et ceftriaxone (100%), imipénème (92.59%), amikacine (85.18%), gentamycine (70.73%), tobramycine (18.51%), ciprofloxacine (92.59%), alors que les taux de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* étaient les suivants: céfopérazone (100%), cefsulodine (100%), imipénème (76.47%), ceftazidime (11.76%), ciprofloxacine (29.41%), gentamicine (23.52%), amikacine (0%). aucune souche résistante à la colistine n'a été isolée.

Mots clés : bacilles à Gram négatif non fermentants, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, résistance, antibiotiques, colistine, réanimation.

# ***Abstract***

Non-fermentative Gram negative rods are opportunistic pathogens mainly responsible for nosocomial infections. Treatment of these infections is often difficult, because of their natural and acquired resistance to many antibiotics. A total of 44 strains of Non-fermentative Gram negative rods (27 *Acinetobacter baumannii* and 17 *Pseudomonas aeruginosa*) were isolated from the intensive care unit at the university hospital of Tlemcen. The study *in vitro* of resistance of these organisms to antibiotics revealed that strains of *Acinetobacter baumannii* have a high level resistance to molecules tested: ceftazidim and ceftriaxon (100%), imipenem (92.59%), amikacin (85.18%) gentamycin (70.73%), tobramycin (18.51%), ciprofloxacin (92.59%). The antibiotic resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa* were: cefoperazon (100%), cefsulodin (100%), imipenem (76.47%), ceftazidim (11.76%), ciprofloxacin (29.41%), gentamicin (23.52%), amikacin (0%). No colistin-resistant strain was isolated.

Keywords: Non-fermentative Gram negative rods, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance, antibiotics, colistin, intensive care unit.

## ملخص

العصيات الغير مخمرة (BGNnF) هي جراثيم ممرضة إنتهازية مسؤولة أساسا عن الالتهابات المكتسبة. علاج هذه الالتهابات غالبا ما يكون صعبا، بسبب مقاومتهم الطبيعية والمكتسبة لكثير من المضادات الحيوية. مجموع 44 جرثوم من العصيات الغير مخمرة (BGNnF) (*Acinetobacter baumannii* et 17 *Pseudomonas aeruginosa*) تم عزلها على مستوى وحدة العناية المركزة بالمركز الاستشفائي الجامعي بتلمسان. دراسة مقاومة هذه الجراثيم للمضادة الحيوية أظهرت مقاومة عالية لسلسلة *Acinetobacter baumannii* لهذه الجزيئات: سفنازيديم و سفترياكسن (100%) ، إيميبنام (92.59%)، اميكاسين (85.18%)، جنتامسين (70.73%)، سبرفلوكسسين (92.59%)، في حين نسب مقاومة سلالة *Pseudomonas aeruginosa* للمضادات الحيوية ، كانت كالتالي: سفبيرازون (100%)، سفسلدين (100%) ، إيميبنام (76.74%)، سفنازيديم (11.76%) ، سبرفلوكسسين (29.41%) ، جنتامسين (23.52%)، اميكاسين (0%). لم يتم عزل أى سلالة مقاومة للكولستين.

**الكلمات المفتاحية :** العصيات الغير مخمرة ، *Acinetobacter baumannii* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، مقاومة ، المضادة الحيوية ، كولستين، وحدة العناية المركزة.



## *Liste des abréviations*

AN: Amikacine

API : Appareillage et Procédé d'Identification

ATCC: American type culture collection

BGN : Bactéries à Gram négatif

BGNnF: Bacille à Gram négatif non fermentant

BHIB : Bouillon cœur cerveau

BN : Bouillon nutritif

CASE : Céphalosporinase

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CAZ : Ceftazidime

CIP : Ciprofloxacine

CFP : Céfopérazone

CFS : Cefsulodine

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMS: Colistiméthate sodique

CRO : Ceftriaxone

CS : Colistine

DO : Densité optique

GC : Gélose nutritive au cétrimide

GM : Gentamycine

GN : Gélose nutritive

IMP : Imipénème

LPS: Lipopolysaccharide

## *Liste des abréviations*

---

MH: Mueller Hinton

PLP : Protéines liant les pénicillines

TM : Tobramycine

T.S.I : Triple Sugar Iron agar

UFC : Unité formant colonie



## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Sites d'action de différents types d'antibiotiques .....	6
<b>Figure 2.</b> Cycle $\beta$ -lactame .....	6
<b>Figure 3.</b> Structure chimique des $\beta$ -lactamines.....	8
<b>Figure 4.</b> Comparaison structurelle entre le peptidoglycane et les antibiotiques $\beta$ -lactames.....	9
<b>Figure 5.</b> Acylation du site actif sérine d'une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) par une $\beta$ -lactamines.....	10
<b>Figure 6.</b> Structure de base des quinolones.....	10
<b>Figure 7.</b> Structure de base des quinolones.....	11
<b>Figure 8.</b> Structure de la colistine A et B.....	13
<b>Figure 9.</b> Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram négatif.....	14
<b>Figure 10.</b> Représentation schématique du LPS.....	14
<b>Figure 11.</b> Systèmes de régulation PhoP-PhoQ, PmrA-PmrB chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
<b>Figure 12.</b> Bandelette E-test .....	23
<b>Figure 13.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif .....	24
<b>Figure 14.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i> à partir des prélèvements sur patients.....	25
<b>Figure 15.</b> Répartition de <i>P. aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i> au niveau de l'environnement....	25
<b>Figure 16.</b> Répartition des souches au niveau des prélèvements trachéaux.....	26
<b>Figure 17.</b> Répartition des souches au niveau des sondes vésicales .....	26
<b>Figure 18.</b> Pourcentages de résistance aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	27
<b>Figure 19.</b> Pourcentages de résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28

**Figure 20.** Distribution des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines de *Pseudomonas aeruginosa*.....29

**Figure 21.** Phénotype «perte OprD» chez *Pseudomonas aeruginosa* .....29

**Figure 22.** Phénotype « perte OprD + céphalosporinase» chez *Pseudomonas aeruginosa*...30

**Figure 23.** Phénotype «céphalosporinase» chez *Pseudomonas aeruginosa*.....30

**Figure 24.** Résultats du E-test pour la colistine .....33

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Répartition des prélèvements selon les sites de prélèvement.....	<b>24</b>
<b>Tableau 2.</b> Résultats des CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	<b>31</b>
<b>Tableau 3.</b> Intervalles de CMI des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) observés en fonction des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines .....	<b>32</b>

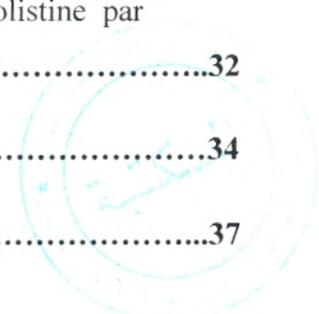
## Liste des annexes

<b>Annexe 1.</b> Tableau de lecture d'une galerie API 20 NE.....	<b>46</b>
<b>Annexe 2.</b> Tableau d'identification du catalogue analytique API 20 NE.....	<b>47</b>
<b>Annexe 3.</b> Concentrations et diamètres critique et règles de lecture interprétative pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>48</b>
<b>Annexe 4.</b> Concentrations et diamètres critique et règles de lecture interprétative pour <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Stenotrophomonas</i> spp et <i>Burkholderia cepacia</i> .....	<b>49</b>
<b>Annexe 5.</b> Préparation des solutions d'antibiotiques.....	<b>50</b>
<b>Annexe 6.</b> Répartition des BGNnF selon la nature du prélèvement.....	<b>51</b>
<b>Annexe 7.</b> Résultats des CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>52</b>
<b>Annexe 8.</b> Résultats des antibiogrammes d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	<b>53</b>
<b>Annexe 9.</b> Résultats des antibiogrammes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>54</b>

## *Sommaire*

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
 <b><i>Synthèse bibliographique</i></b>	
<b>1. Les bacilles à Gram négatif non fermentants.....</b>	<b>2</b>
1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	2
1.2 <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	3
1.3 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .....	4
1.4 <i>Burkholderia cepacia</i> .....	5
<b>2. les antibiotiques.....</b>	<b>5</b>
2.1 Les $\beta$ -lactamines.....	6
2.1.1 Définition.....	6
2.1.2 Classification .....	7
2.1.3 Mode d'action des $\beta$ -lactamines.....	8
2.2 Les quinolones.....	10
2.3 Les aminosides .....	11
2.4 Colistine .....	12
2.4.1 Mécanisme d'action de la colistine .....	13
<b>3. Mécanisme de résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants à la colistine.....</b>	<b>15</b>
 <b><i>Matériel et Méthodes</i></b>	
<b>1. Matériel.....</b>	<b>17</b>
1.1 Matériel biologique .....	17
1.2 Milieux de culture .....	17
1.3 Tests biochimiques .....	17
1.4 Antibiotiques .....	17

<b>2. Méthodes</b> .....	<b>18</b>
2.1 Lieu d'étude.....	18
2.2 Prélèvements .....	18
2.3 Isolement et purification.....	18
2.4 Identification .....	18
2.5 Conservation des souches .....	20
2.6 Étude de la résistance aux antibiotiques .....	20
2.6.1 Antibiogramme .....	20
2.6.2 Détermination des CMI en milieu solide (CA-SFM, 2010) .....	21
2.6.3 E-test .....	22
 <b>Résultats et discussion</b>	
<b>1. Résultats</b> .....	<b>24</b>
1.1 Prélèvements .....	24
1.2 Souches étudiées .....	24
1.2.1 Répartition des BGNnF en fonction des sites de prélèvement .....	25
1.3 Résistance des BGNnF aux antibiotiques .....	27
1.3.1 Résistance aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	27
1.3.2 Résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28
1.4 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par méthode de dilution.....	30
1.5 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la colistine par méthode E-test.....	32
<b>2. Discussion</b> .....	<b>34</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>37</b>



*Références bibliographiques*.....38

*Annexes* .....47

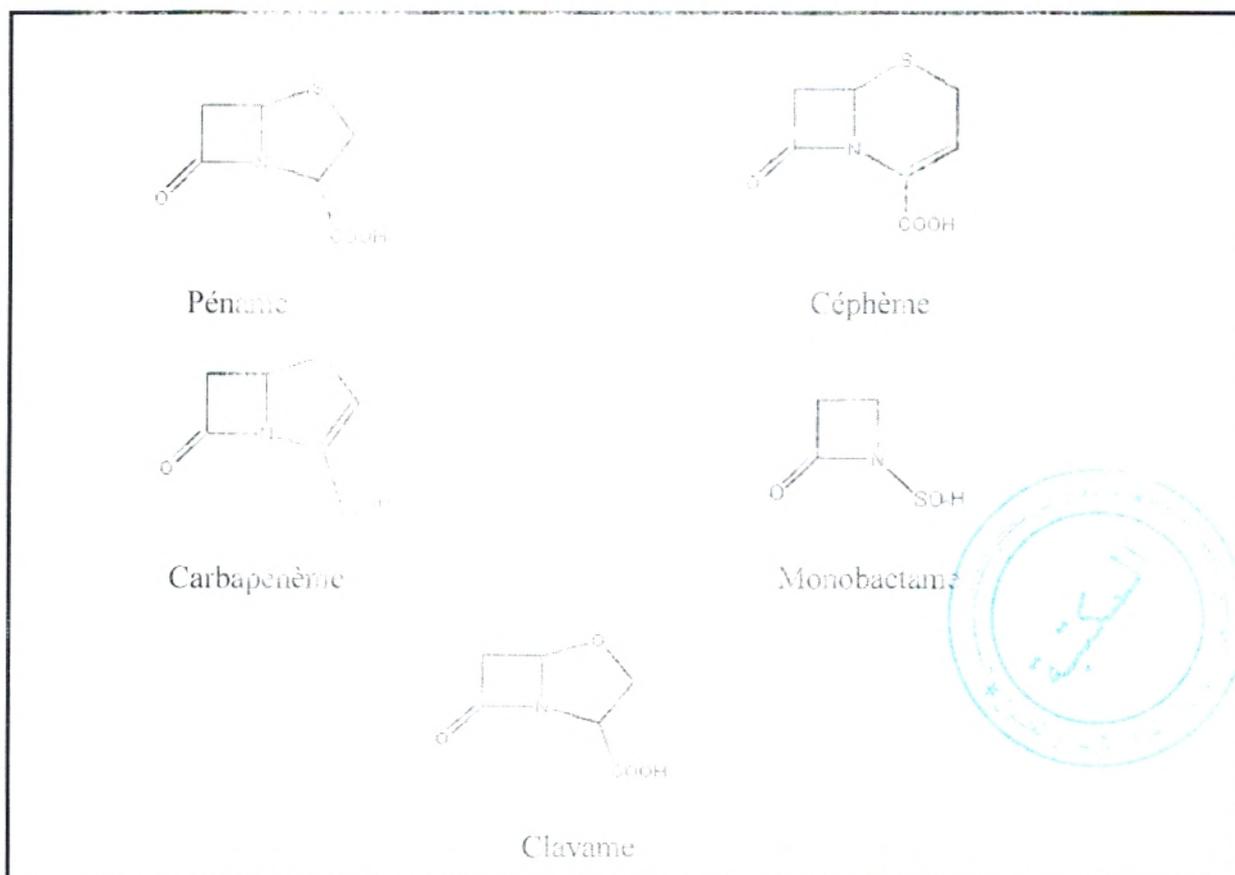
La découverte des antibiotiques constitue l'une des innovations de la médecine moderne et a considérablement amélioré le traitement des maladies infectieuses (**Li et al., 2006**). Cependant, l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques a conduit à une sélection de populations résistantes entraînant des problèmes majeurs de santé publique, avec pour conséquence une augmentation du nombre d'échecs thérapeutiques (**Berche et al., 2003**).

Les bacilles à Gram négatif non fermentants se comportent comme pathogènes opportunistes, responsables d'infections nosocomiales sévères. En plus de leur résistance naturelle aux antibiotiques, ces bactéries possèdent une aptitude remarquable à acquérir de nouveaux mécanismes de résistance (**Enoch et al., 2007**), dont certaines souches d'*Acinetobacter* sp. et de *Pseudomonas* sp. rencontrées en réanimation sont devenues résistantes à la quasi-totalité des antibiotiques actuellement disponibles. Ainsi, des molécules anciennes délaissées à cause de leur toxicité supposée, comme la colistine, constituent parfois la seule alternative et reviennent en première ligne pour le traitement d'infections à bactéries à Gram négatif multirésistantes. Cependant, l'usage de plus en plus important de la colistine a conduit à l'apparition des souches résistantes à cet antibiotique (**Frasca et al., 2008**).

La résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants à la colistine impose une surveillance régulière de leur sensibilité à cet antibiotique. Notre étude qui entre dans ce cadre a pour objectif :

- ❖ L'isolement et l'identification d'une collection de bacilles à Gram négatif non fermentants isolés à partir du service de réanimation au niveau du CHU de Tlemcen.
- ❖ Evaluer la résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants aux antibiotiques et en particulier à la colistine.

de manière irréversible. Les inhibiteurs commercialisés sont l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam (Perronne, 1999). Le sulbactam et le tazobactam sont des sulfones de l'acide pénicillanique, alors que pour l'acide clavulanique, le soufre du cycle thiazolidine est remplacé par un oxygène (clavame ou oxapénème) (Kazmierczak, 1999).



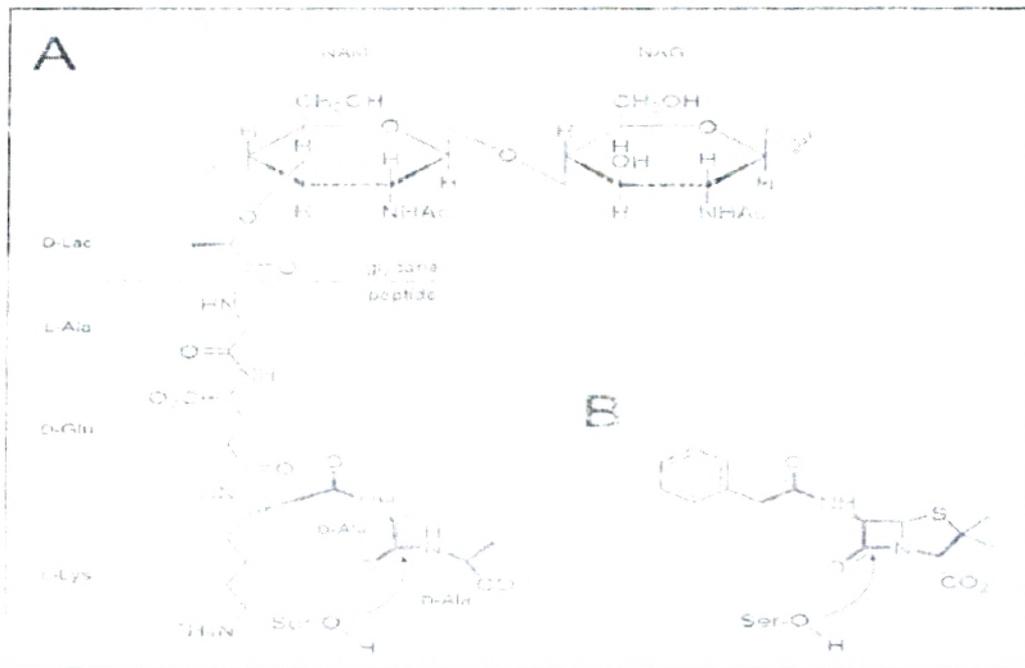
**Figure 3 : Structure chimique des  $\beta$ -lactamines (Tulkens et Spinewine, 2002)**

### 2.1.2 Mode d'action des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines sont des agents bactéricides qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne. Elles interviennent dans la dernière étape du processus d'élaboration de l'un des éléments essentiels de la paroi, le peptidoglycane (Chartier et al., 1998). En effet, le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes de glycanes reliées par des peptides. Ses précurseurs sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique (Perronne et al., 1999).

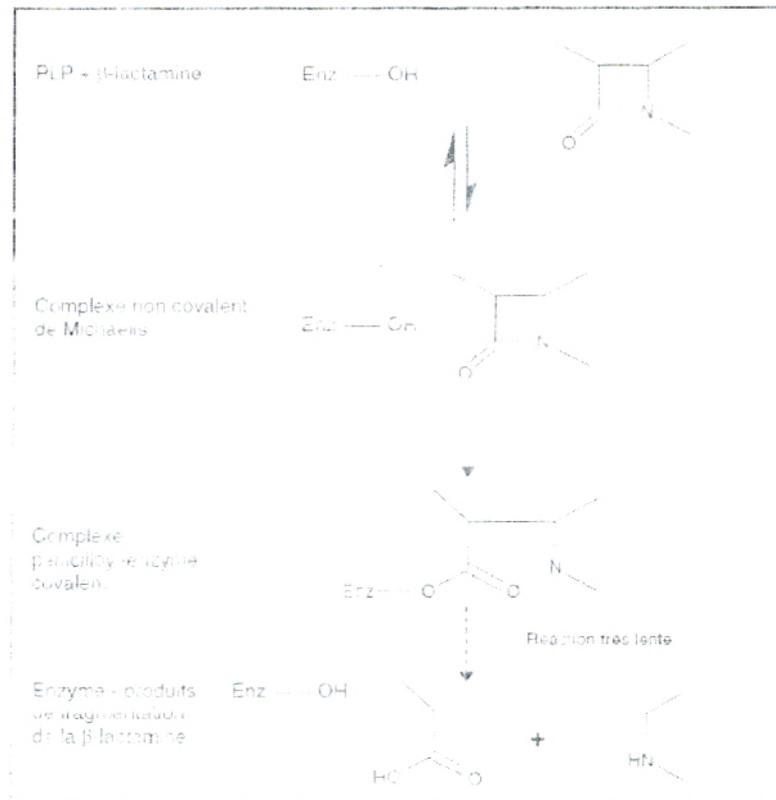
Les  $\beta$ -lactamines se fixent sur des protéines membranaires : les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) intervenant dans la synthèse du peptidoglycane. Ces protéines sont des enzymes catalysant les liaisons entre chaînes peptidiques dans la paroi (Flandrois, 1997).

Le substrat naturel de ces PLP consiste en un pentapeptide lié aux chaînes de peptidoglycane et portant la séquence : L-Ala-D-Glu-L-Xaa-D-Ala-D-Ala. De part leur analogie structurale avec l'extrémité carboxy-terminale (D-Ala-D-Ala) (figure 4), les  $\beta$ -lactamines sont capables de se substituer au résidu de ce pentapeptide (De Wals, 2007). Cette fixation entraîne une ouverture du cycle  $\beta$ -lactame par rupture de la liaison amide et une acylation du site actif sérine avec formation d'un complexe pénicilloyl-enzyme covalent (figure 5) qui aboutit à l'inactivation du site actif de l'enzyme, provoquant une inhibition de la synthèse du peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne (Cavallo et al., 2004).



**Figure 4. Comparaison structurale entre le peptidoglycane et les antibiotiques  $\beta$ -lactames (De Wals, 2007).**

A : Structure générale de peptidoglycan ; B : structure de la benzylpénicilline.

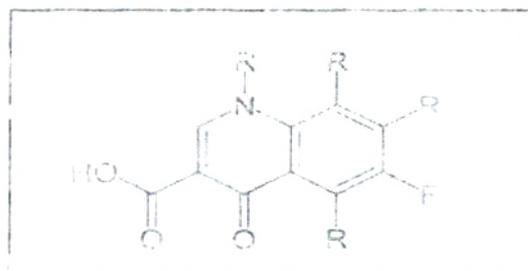


**Figure 5 : acylation du site actif sérine d'une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) par une  $\beta$ -lactamines (Cavallo et *al.*, 2004)**

Enz : enzyme

## 2.2 Les quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques obtenus par synthèse chimique, dérivent de l'acide nalidixique (Page et *al.* 1999). Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4 (figure 6) (Faure, 2008).



**Figure 6 : Structure de base des quinolones (Faure, 2008)**

Les quinolones de première génération, dont le chef de file est l'acide nalidixique, n'agissent que sur les bacilles à Gram négatif et ne sont utilisées que dans le traitement des infections

urinaires (**Perronne, 1999**). Actuellement de nouveaux composés de cette même famille d'antibiotiques ont été mis au point, dont certains additionnés d'un atome de fluor (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine...) (figure 7) possèdent une activité plus étendue et sont indiqués dans le traitement des infections systémiques et tissulaires à bacilles à Gram négatif et à cocci à Gram positif (**Nordmann, 2006**).

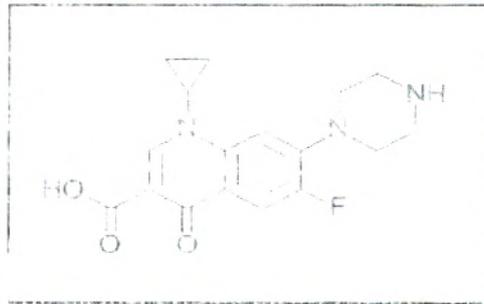


Figure 7 : structure d'une fluoroquinolone (faure, 2008)

Après avoir pénétré à l'intérieur des cellules bactériennes par des protéines de perméabilité spécifique, ces molécules hydrophiles inhibent les topo-isomérases de type II (gyrase) et IV empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication (**Nordmann, 2006**). Ces molécules interagissent avec ce complexe ADN-ADN gyrase en formant un complexe ternaire ADN-ADN gyrase-quinolone. Elles bloquent le changement conformationnel de l'enzyme. Ainsi, l'ADN serait stabilisé au moment de la coupure et ne pourrait être religaturé (**Mérens, 2010**).

### 2.3 Les aminosides

Les aminosides sont des molécules polycationiques (**Faure, 2009**). Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol (**Yala et al., 2001**) qui peut être la streptidine (dans la streptomycine) ou la 2-désoxystreptamine (dans tous les autres aminosides). Les sucres sont liés à l'aminocyclitol en position 4 et 6 pour l'ensemble des aminosides, à l'exception de la néomycine pour laquelle les sucres sont liés en position 4 et 5 (**Faure, 2009**).

Les aminosides se fixent au site A de décodage de l'ARN 16S constituant de la sous-unité 30S principalement et, accessoirement, de la sous-unité 50S des ribosomes. Cette liaison perturbe la synthèse protéique par un mécanisme complexe incluant l'inhibition de l'étape d'élongation (en empêchant le transfert du peptidyl-ARNt depuis le site A vers le site P) conduisant à un arrêt de la synthèse protéique et l'introduction d'erreurs dans la lecture des codons de l'ARNm, engendrant la production de protéines aberrantes (**Faure, 2009**).

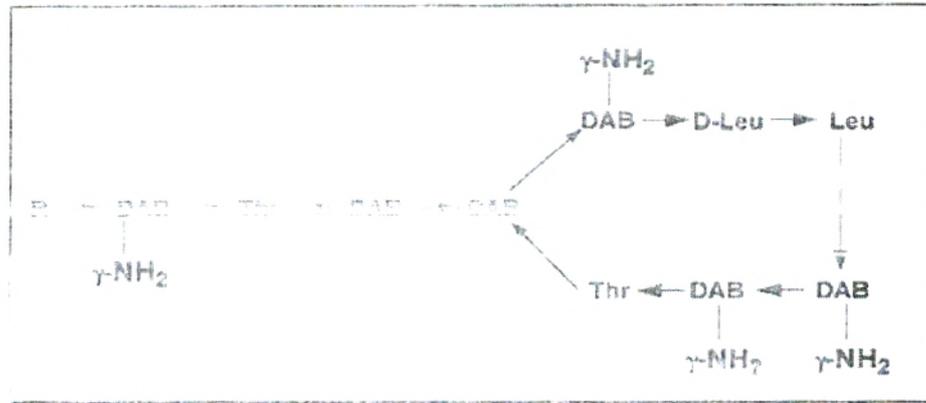
#### 2.4. La colistine

Découverte dans les années 1940, la colistine a été un des premiers antibiotiques dotés d'une activité significative vis-à-vis des bactéries à Gram négatif (BGN) et particulièrement envers *Pseudomonas aeruginosa* (Kipnis et Guery, 2010). En raison de sa toxicité rénale présumée, elle a été peu à peu remplacée par d'autres antibiotiques considérés moins toxiques (Frasca et al., 2008). Elle connaît un regain d'intérêt dans les années 1980-1990 avec son utilisation croissante chez les patients atteints de mucoviscidose ayant des surinfections respiratoires récurrentes par des BGN de résistance croissante.

La colistine faisant partie de la classe des polymyxines, antibiotiques produits naturellement par certaines variantes de *Bacillus polymyxa* (var. *colistinus*). Au sein des polymyxines, subdivisées en dénominations A à F, la colistine a la désignation polymyxine E et se distingue uniquement par un acide aminé (D-phenylalanine au lieu de la D-leucine) de la polymyxine B, antibiotique apparenté et seul autre polymyxine utilisée chez l'homme (Kipnis et Guery, 2010).

La colistine est un polypeptide cationique (Turkoglu et al., 2011), constituée d'un décapeptide cyclique lié à un acide gras (Falagas et al., 2005). La colistine naturelle est constituée de nombreux composés (jusqu'à 30 composés détectables) qui se distinguent selon l'acide gras et/ou certains acides aminés constitutifs. Les composés majoritaires sont les colistines A et B qui se distinguent uniquement par l'acide gras constitutif (figure 8) (Kipnis et Guery, 2010). Cependant, les composés mineurs incluent la polymyxine E3 et E4, norvaline-polymyxine E1, valine-polymyxine E2, isoleucine-polymyxine E1, polymyxine E7 et isoleucine-polymyxine E8 (Li et al., 2005). Ces molécules ont un poids moléculaire relativement élevé et sont chargées positivement avec comme conséquence une diffusion faible dans le milieu d'Agar, entraînant des difficultés de détermination de sensibilité *in vitro* (Cohen, 2010).





**Figure 8 : Structure de la colistine A et B (polymyxine E1 et E2) (Frasca et al., 2008)**

Polymyxine E1 (colistine A): R, acide 6-méthylheptanoïque; polymyxine E2 (colistine B):

R : acide 6-méthylheptanoïque ; DAB : acide-diaminobutyrique ; Thr : threonine ; Leu : leucine.

La colistine existe commercialement sous deux formes différentes : la colistine sulfate et le colistiméthate sodique (CMS) moins toxique et moins puissant (Li et al., 2006).

#### 2.4.1. Mécanisme d'action de la colistine

Le mécanisme d'action proposé de la colistine est essentiellement fondé sur la similarité de structure avec la polymyxine B (Kipnis et al., 2016).

Les polymyxines sont des agents cationiques qui se lient sur la membrane anionique externe de la bactérie produisant un effet détergeant de l'intégrité de cette membrane (Cohen, 2010).

##### 2.4.1.1. Membrane des bactéries à Gram négatif et site d'action de la colistine

La membrane externe des bacilles à Gram négatif (BGN) est une membrane biologique comportant un double feuillet de phospholipides hydrophobes, dans lequel sont enchâssées de nombreuses protéines (figure 9) et qui se distingue de la membrane externe des cellules eucaryotes par la présence de lipopolysaccharides (LPS) (Cavallo et al., 2004).

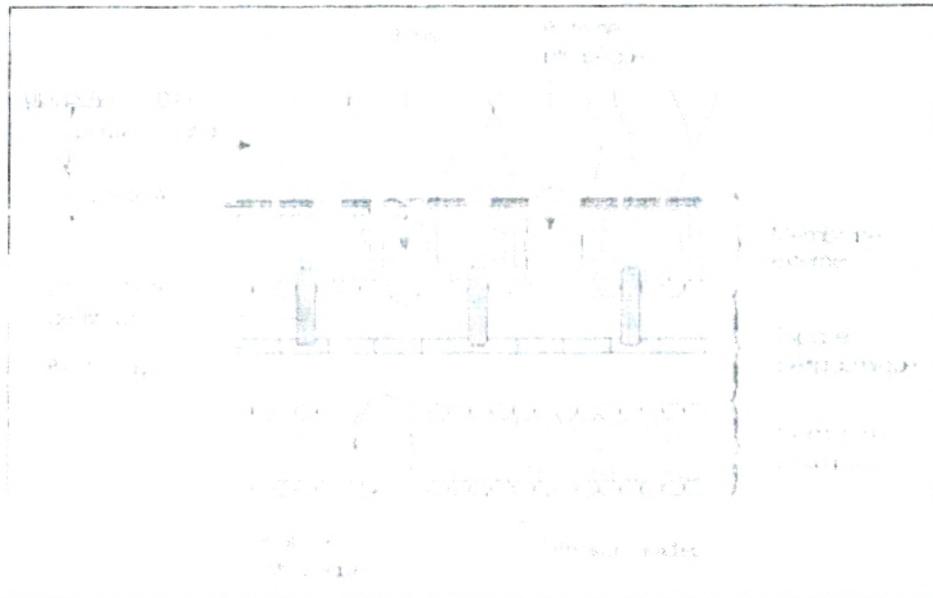


Figure 9 : représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram négatif (Vétérin 2010).

Le lipopolysaccharide (LPS) est composé de trois parties : le lipide A, situé à la partie proximale du LPS et à l'intérieur de la bicouche lipidique, qui possède un caractère hydrophobe ; l'antigène O, de nature polysaccharidique situé à la partie distale du LPS, possédant un caractère hydrophile et le royaume (*core*), de nature polysaccharidique, qui représente le pont entre les deux autres parties (figure 10) (Szalo et al., 2006).

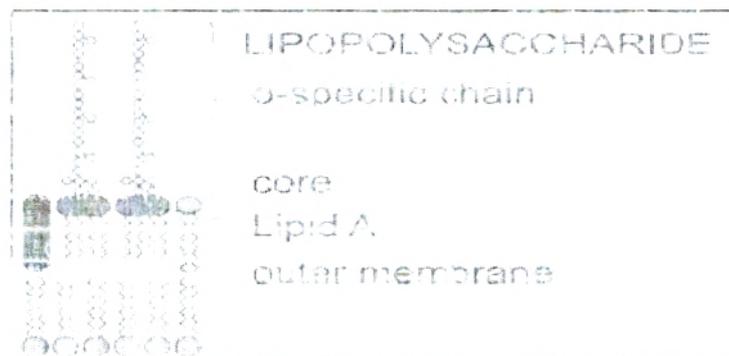


Figure 10 : représentation schématique du LPS (Kipnis et al., 2006).

#### 2.4.1.2. Mode d'action de la colistine

Contrairement à d'autres antibiotiques nécessitant des mécanismes de diffusion ou de transport pour atteindre la membrane cytoplasmique, la colistine atteint sa cible en s'interposant dans les points calciques et les liaisons hydrophobes entre les phospholipides de la membrane externe, et particulièrement le LPS (Kipnis et Guery, 2010), puis grâce aux

propriétés hydrophobes de l'acide gras (Kipnis et al., 2010), déplaçant préférentiellement les ions  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  qui stabilisent les molécules du LPS, modifiant ainsi la perméabilité de la membrane externe. Il s'en suit une fuite des composés cellulaires (Ganapathy et al., 2010). Du fait de la rupture de l'intégrité de la membrane, les bacilles à Gram négatif peuvent devenir plus sensibles aux autres antibiotiques (Cohen, 2010).

### **3. Mécanisme de résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants à la colistine**

Les résistances naturelles à la colistine ne concernent que les bactéries à Gram positif et quelques bacilles à Gram négatif (Frisson et al., 2003). Des particularités du mécanisme d'action de la colistine découlent le fait que la majorité des mécanismes de résistance de classe décrites impliquent des modifications soit des protéines de la membrane bactérienne externe, du lipide A du LPS, ou de la stabilisation cationique de la paroi par le contenu en magnésium ou calcium (Kipnis et Guery, 2010). Ainsi d'autres mécanismes de résistance ont été décrits tels qu'une pompe à efflux chez le bacille à Gram négatif fermentant : *Yersinia spp.* et une colistinase inactivant la colistine chez le bacille à Gram positif *Bacillus polymyxa* (Falagas et al., 2010).

Un mécanisme de résistance plus complexe a été décrit chez *Pseudomonas aeruginosa* aboutissant à des modifications sélectives de la composition de la membrane en phospholipides, protéines et hydrates de carbone, la rendant quasi imperméable à la colistine (Kipnis et Guery, 2010).

La résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* est associée à l'activation des systèmes de régulation à deux composants. Ces systèmes contrôlent l'expression de l'opéron *arnBCADTEF-pmrE* qui modifie la structure du LPS par l'addition du 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (LARA4N) aux groupements phosphate du lipide A (Skiada et al., 2011). Cette addition augmente la charge du lipide A et réduit l'interaction entre la membrane bactérienne et la colistine (Falagas et al., 2010). Les systèmes régulateurs sont composés de kinases membranaires percevant les signaux environnementaux (ex. pH,  $Mg^{2+}$ , présence des peptides cationiques) et d'un protéine régulatrice cytoplasmique (Skiada et al., 2011). Trois systèmes de régulation à deux composants ont été mis en évidence chez *Pseudomonas aeruginosa* impliqués dans le processus de la résistance. Le système PhoP-PhoQ est activé suite à la détection des faibles concentrations en  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  et d'un pH faible. Le deuxième système de régulation à deux composants PmrA-PmrB qui, en réponse à des faibles concentrations en  $Mg^{2+}$ , régule l'opéron *arnBCADTEF* impliqué dans le processus de modification du LPS (figure 11) (Skiada et al., 2011). Le troisième système chez *Pseudomonas aeruginosa*

(ParR-ParS) est activé par des concentrations subinhibitrices de peptide cationique (colistine) et semble être l'élément majeur conduisant à la modification du lipide A et l'induction de la résistance (Skiada *et al.* 2011).

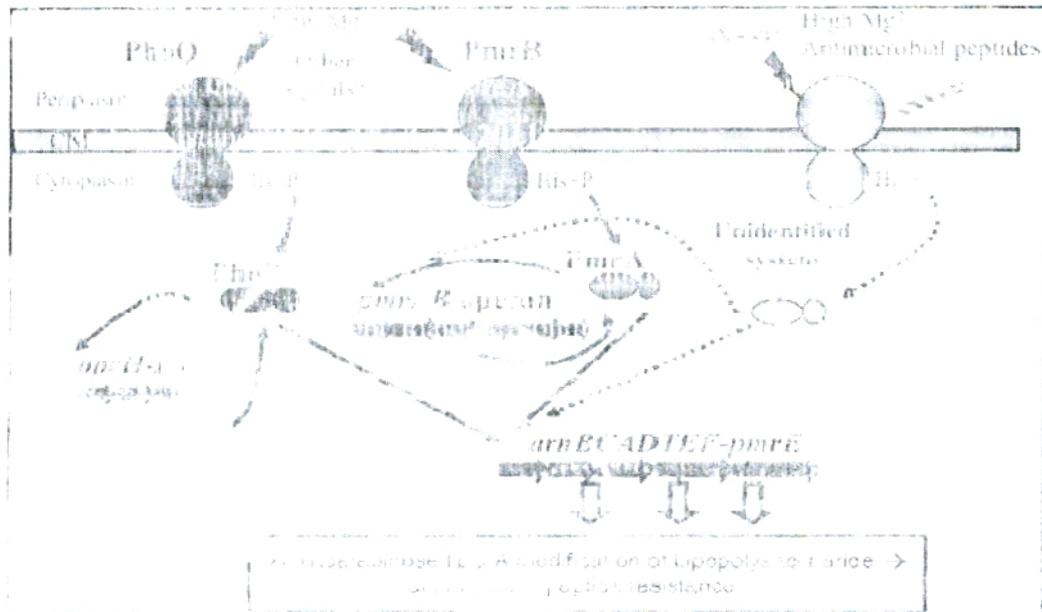


Figure 11 : systèmes de régulation PhoQ-PhoP, PmrA-PmrB chez *Pseudomonas aeruginosa* (Goodell *et al.* 2008)

# Matériel et méthodes

## **1. Matériel**

### **1.1 Matériel biologique**

#### **1.1.1 Souches étudiées**

Un total de 44 souches de bacilles à Gram négatif non fermentants, isolé entre Mars et Mai 2012 à partir du service de réanimation au CHU de Tlemcen, a fait l'objet de notre étude.

#### **1.1.2 Souches de références**

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

### **1.2 Milieux de culture**

#### **1.2.1 Milieux de culture liquides**

- Bouillon nutritif (BN) (Institut Pasteur d'Algérie)
- Bouillon cœur cerveau (BHIB) (Fluka)
- Eau physiologique

#### **1.2.2 Milieux de culture solide**

- Mac Conkey (Fluka)
- Gélose nutritive (GN) (Fluka)
- Mueller Hinton (MH) (Fluka)
- T.S.I (Merck)
- Gélose nutritive au cétrimide (GC) (Fluka)

### **1.3 Tests biochimiques**

- Galerie API 20 NE (Bio Mérieux)
- Disques d'oxydase (Fluka)

### **1.4 Antibiotiques**

Les antibiotiques testés sont les suivants :

#### **1.4.1 En disque**

Ceftazidime (Oxoïde), ceftriaxone (Oxoïde), imipénème (Biorad), gentamycine (Oxoïde), tobramycine (Oxoïde), amikacine (Bioanalyse), ciprofloxacine (Oxoïde), colistine (Sirscan), céphopérazone (Biorad), cefsulodine (Oxoïde).

La charge des disques et les valeurs critiques des antibiotiques sont présentées en annexe 3.

#### **1.4.2 En poudre**

Imipénème (Neopharmed), ceftazidime (Panpharma).

#### **1.4.3 Bandelettes E-Test (Biomériex)**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la colistine ont été mesurées par méthode E-test.

### **2. Méthodes**

#### **2.1 Lieu d'étude**

Ce travail a été réalisé au laboratoire, antibiotiques, antifongiques : physico-chimie, synthèse et activités biologiques. Les prélèvements ont été pratiqués au niveau du service de réanimation au CHU de Tlemcen.

#### **2.2 Prélèvements**

Les prélèvements ont été effectués, à partir de l'environnement (bord du lit, drap, chariot, sol, poignée de porte et robinet) par écouvillonnage et à partir de divers sites sur patients hospitalisés (aspiration trachéal, plaie, et sonde vésicale) au niveau du service de réanimation puis acheminés au laboratoire dans des tubes de bouillon nutritif pour être incubés à 37°C pendant 24 heures.

#### **2.3 Isolement et purification**

L'ensemencement des souches a été réalisé sur le milieu Mac-Conkey et incubé à 37°C pendant 24 heures. La purification des colonies bactériennes est précédée par repiquage successif sur le même milieu. L'isolement des souches de *Pseudomonas aeruginosa* est réalisé sur gélose nutritive additionnée au cétrimide.

#### **2.4 Identification**

L'identification des souches a été réalisée par le T.S.I, le test d'oxydase et par Galerie API 20NE.

#### **2.4.1 Test des trois sucres (T.S.I)**

- **Principe**

Le milieu TSI permet d'étudier la fermentation du lactose, du glucose et du saccharose avec ou sans production de gaz et de la production de sulfure d'hydrogène. Il oriente l'identification vers un genre fermentaire ou non fermentaire.

- **Technique**

L'ensemencement est réalisé par stries sur la pente puis par piqûre centrale dans le culot, la lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

- **Lecture**

La fermentation des sucres se traduit par le virage du couleur de milieu au jaune, le dégagement de gaz se traduit par la formation des bulles de gaz dans la masse du culot, alors que la production d'H<sub>2</sub>S se traduit par le noircissement de milieu.

#### **2.4.2 Test d'oxydase**

Ce test est réalisé en ajoutant un disque imprégné d'oxalate N-diméthylphénylène-diamine à une suspension bactérienne dense en eau physiologique. Ce réactif s'oxyde au contact du cytochrome des bactéries oxydase positive. La réaction d'oxydation se traduit par une coloration violette foncée en deux minutes environ.

#### **2.4.3 Galerie API 20 NE**

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

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratés. Ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

- **Technique**

*Préparation de la galerie :*

- Mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée);
- Placer la galerie sur le fond de la boîte ;
- Recouvrir la boîte avec son couvercle ;
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

*Préparation de l'inoculum :*

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0.85% ;
- A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- Réalisez une suspension bactérienne en homogénéisation soigneusement.

*Inoculation de la galerie :*

- Introduire la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie à l'aide d'une pipette ;
  - Refermer la boîte d'incubation, incuber à 37° C pendant 24 heures.
- **Lecture**
  - Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs ;
  - La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (**Annexe1**) et l'identification des souches est obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique (**Annexe2**).

## **2.5. Conservation des souches**

Les souches ont été conservées à 4 C° dans des tubes de gélose inclinée ou dans des tubes de gélose profonde.

## **2.6 Etude de la résistance aux antibiotiques**

### **2.6.1 Antibiogramme (CA-SFM, 2010)**

- **Principe**

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistante) et d'orienter l'antibiothérapie. Il est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique, obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé.

- **Technique**

La technique utilisée est la méthode de diffusion des antibiotiques en milieu solide (méthode des disques), selon le communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (**CA-SFM, 2010**).

- A partir d'une culture bactérienne de 24 h sur milieu gélosé, réaliser une suspension en ensemençant une colonie dans 5 ml de BHIB, incuber 24 h à 37°C ;

- Calibrer la densité optique (DO) de la culture obtenue à une DO de 0,08-0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à  $10^8$  UFC/ml ;
- A partir de cette culture, effectuer une dilution au 1/100 ( $\approx 10^6$  UFC/ ml) dans de l'eau physiologique ;
- Ensemencer par inondation, les boîtes de Pétri préalablement coulées par 20 ml de milieu Mueller Hinton, bien agiter puis enlever le surplus ;
- Sécher les boîtes 30 minutes à l'étuve à  $37\text{ C}^\circ$  ;
- Déposer les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile.
  - **Lecture**
- Après 18 à 24 heures d'incubation, mesurer les diamètres d'inhibition en se référant aux valeurs critiques publiées par le CA-SFM (2010) (**Annexe 3 et 4**).

### **2.6.2 Détermination des CMI en milieu solide (CA-SFM, 2010)**

- **Principe**

La méthode de dilution successive en milieu solide est la méthode de référence pour déterminer la sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques.

- **Technique**

#### **Préparation des solutions d'antibiotiques**

Pour chacun des antibiotiques, préparer une solution mère à 5120 mg/l puis réaliser des dilutions en série de progression géométrique de raison 1/2 (**Annexe 5**)

#### **Préparation des boites**

- Distribuer 2 ml de chaque dilution d'antibiotiques dans une série de boîtes de Pétri ;
- Ajouter 18 ml de milieu Mueller Hinton gélosé maintenu en surfusion ;
- Bien mélanger et laisser solidifier ;
- Sécher les boites 30 minutes à l'étuve à  $37^\circ\text{C}$ .

#### **Préparation de l'inoculum**

- A partir des cultures de 18 heures, préparer des suspensions de  $10^8$  UFC/ ml pour chacune des souches à tester ;

- Diluer la suspension inoculum au 1/10 ( $\approx 10^7$  UFC/ ml) dans de l'eau physiologique.

#### **Ensemencement**

- Ensemencer par spot 1 à 2  $\mu$ l de la suspension bactérienne soit un inoculum de  $10^4$  UFC/spot.

#### **Incubation**

- Incuber 18 à 24 heures à 37° C.

- **Lecture**

La concentration minimale inhibitrice, est la plus faible concentration d'antibiotique où il n'y a pas de croissance bactérienne visible.

#### **2.6.3 E-test**

E-test est une technique quantitative pour la détermination sur milieu gélosé de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des agents antimicrobiens vis-à-vis des microorganismes.

E-test se compose d'une mince bandelette de plastique inerte et non poreuse (5 x 57 mm) calibrée avec une échelle de CMI exprimée en  $\mu$ g/ml et un code pour identifier l'agent antimicrobien. Un gradient prédéfini de concentration d'antibiotique comprenant 15 dilutions correspondant aux méthodes de CMI conventionnelles est immobilisé sur l'autre surface du support (**Figure 12**).

Lorsqu'une bandelette E-test est appliquée sur la surface d'une gélose ensemencée, le gradient exponentiel préformé de l'agent antimicrobien est immédiatement transféré dans la matrice de l'agar.

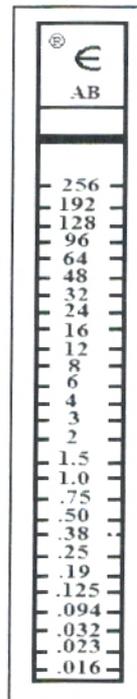
- **Technique**

- A partir d'une culture bactérienne de 24 h sur milieu gélosé, réaliser une suspension en ensemençant une colonie dans 5 ml de BHIB, incuber 24 h à 37°C ;
- Calibrer la densité optique (DO) de la culture obtenue à une DO de 0,08-0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à  $10^8$  UFC/ml ;
- A partir de cette culture, effectuer une dilution au 1/100 ( $\approx 10^6$  UFC/ ml) dans de l'eau physiologique ;

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et retirer l'excès de liquide en appuyant l'écouvillon contre la paroi interne du tube ;
- Ecouvillonner doucement toute la surface de la gélose dans trois directions. ;
- Laisser absorber complètement l'humidité en excès et s'assurer que la surface de la gélose est complètement sèche avant le dépôt des bandelettes E-test ;
- Appliquer les bandelettes E-test à la surface de la gélose en s'assurant que l'échelle de CMI soit positionnée correctement.

- **Lecture**

Après une période d'incubation de 24 heures, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette est formée. La CMI est lue directement à partir de l'échelle de graduation et exprimée en  $\mu\text{g/ml}$  au point où l'ellipse d'inhibition croise la bandelette (**Annexe 3 et 4**).



**Figure 12: Bandelette E-test**

# Résultats et discussion

## 1. Résultats

### 1.1 Prélèvements

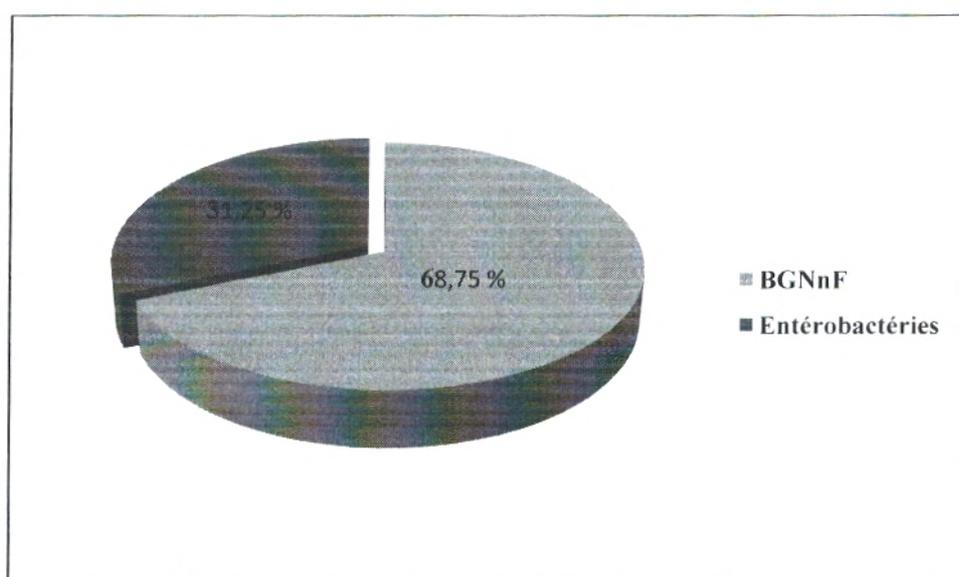
Durant la période d'étude, 63 prélèvements ont été réalisés au niveau du service de réanimation (tableau 1), dont 13 de l'environnement et 50 à partir des patients. Les prélèvements sur patients, sont pratiqués au niveau de différents sites, dont 27 à partir d'aspirations trachéales, 21 de sondes vésicales et 2 à partir de plaies.

**Tableau 1. Répartition des prélèvements selon les sites de prélèvement.**

Patients			Environnement	Total
Trachéal	Sonde Vésicale	Plaie		
27	21	2	13	63

### 1.2 Souches étudiées

64 bacilles à Gram négatif ont été isolés à partir de 63 prélèvements, dont 20 appartiennent au groupe des entérobactéries (31.25%) et 44 au groupe des bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNnF) (68.75%) (figure 13), ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 69.8 % (44/63).



**Figure 13 : Répartition des bacilles à Gram négatif**

Sur un total de 44 BGNnF identifiés, 36 ont été isolés à partir des patients (72%), dont 21 *Acinetobacter baumannii* (58.3%) et 15 *Pseudomonas aeruginosa* (41.7%) (figure 14). A partir des 13 prélèvements de l'environnement, 8 souches de BGNnF ont été isolées (61.5%) dont 2 *Pseudomonas aeruginosa* (75%) et 6 *Acinetobacter baumannii* (25%) (figure 15).

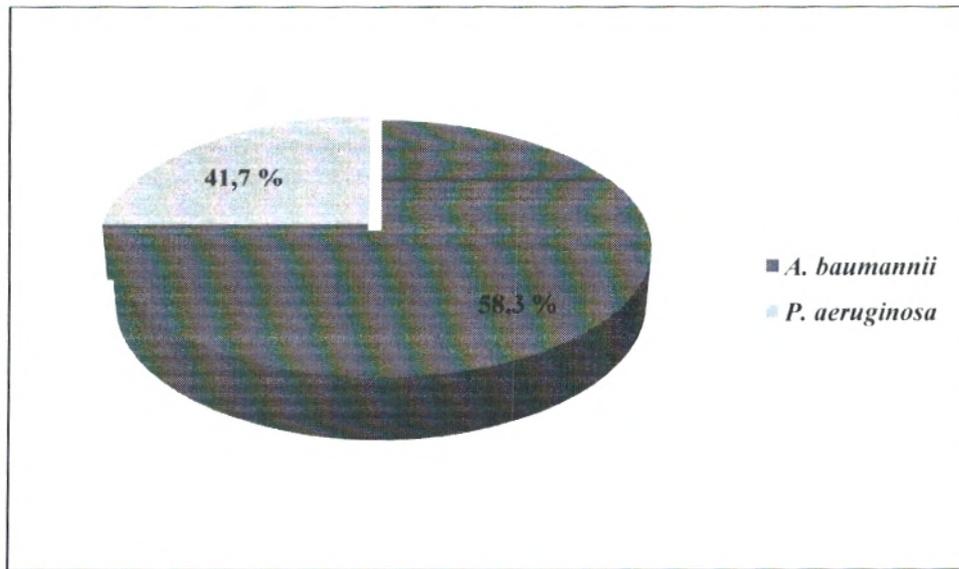


Figure 14. Répartition des BGNnF isolés à partir des prélèvements sur patients

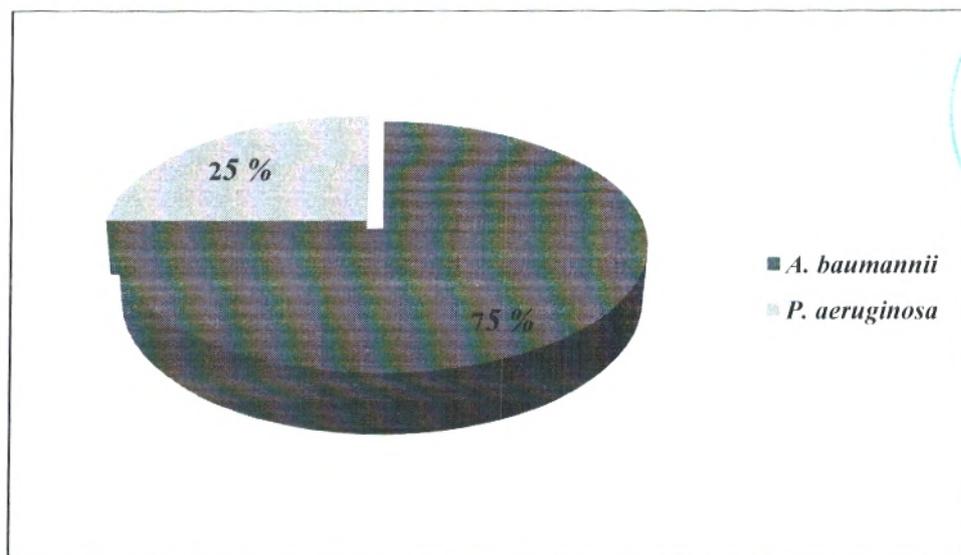
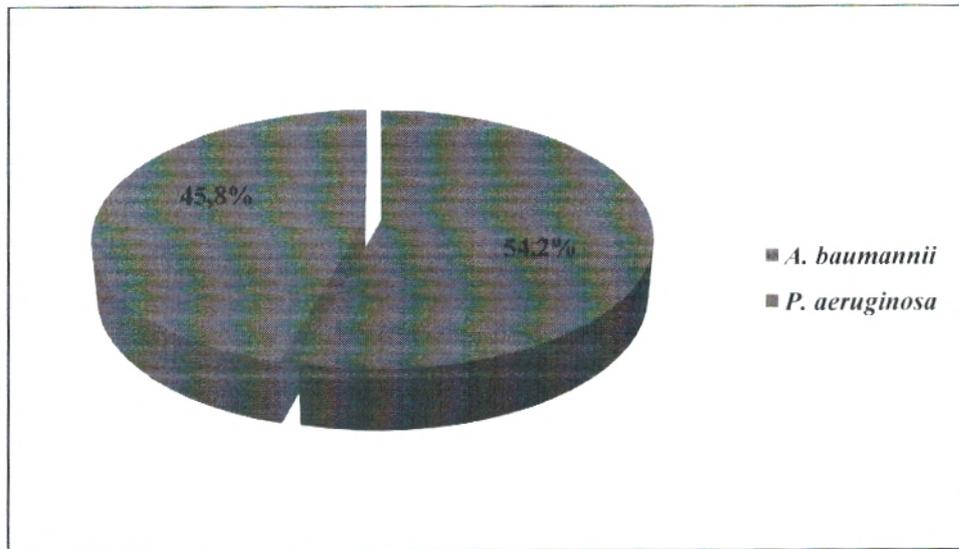


Figure 15. Répartition des BGNnF au niveau de l'environnement

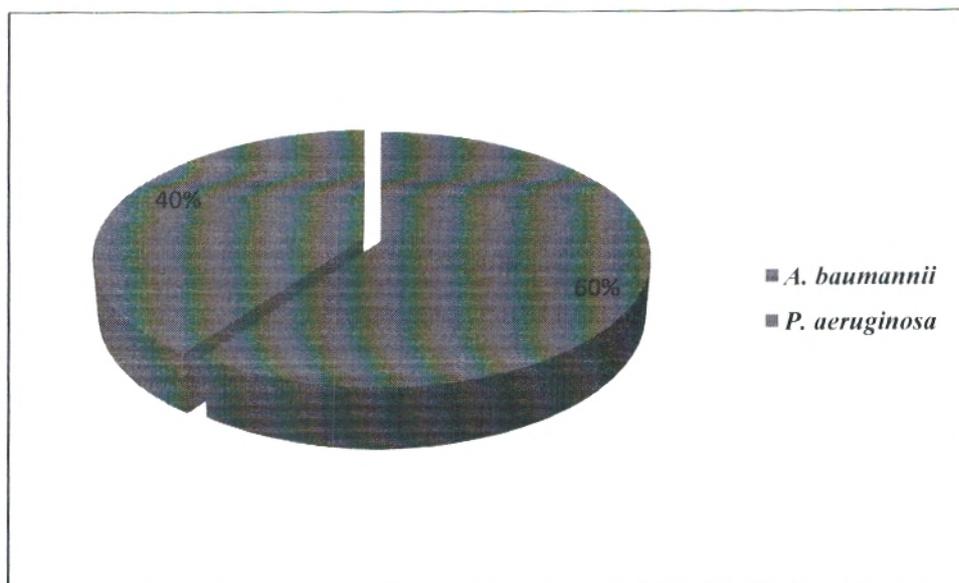
### 1.2.1 Répartition des BGNnF en fonction des sites de prélèvement

Le taux d'isolement d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* varie selon les sites de prélèvement. Les résultats révèlent qu'*Acinetobacter baumannii* est l'espèce

prédominante au niveau du prélèvement trachéal (figure 16), sonde vésicale (figure 17) et les plaies chirurgicales avec respectivement des taux de 54.2% (13/24), 60 % (6/10) et 100% (2/2).



**Figure 16. Répartition des BGNnF au niveau des prélèvements trachéaux**



**Figure 17. Répartition des souches au niveau des sondes vésicales**

### 1.3 Résistance des BGNnF aux antibiotiques

#### 1.3.1 Résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii*

En considérant comme souche résistante une souche non sensible, c'est-à-dire une souche catégorisée résistante ou intermédiaire, il ressort (annexe 8) que les souches d'*Acinetobacter baumannii* présentent des taux de résistance élevés vis-à-vis de la plupart des antibiotiques testés à l'exception de la colistine qui garde une très bonne activité avec 100% de souches sensibles (figure 18).

Les souches étudiées présentent une forte résistance à la famille des  $\beta$ -lactamines avec des taux de résistance de 100% à la ceftazidime et la ceftriaxone et 92.6% à l'imipénème. La résistance totale des souches d'*Acinetobacter baumannii* aux céphalosporines de troisième génération est expliquée par leur résistance naturelle à ces antibiotiques.

Pour ce qui concerne les autres classes d'antibiotiques, tout d'abord pour les aminosides, le taux de résistance le plus important est noté pour l'amikacine (85.18%) et la gentamycine (70.73%) alors que la tobramycine conserve son activité avec un taux de résistance de 18.51%. Pour les fluoroquinolones, la ciprofloxacine présente un taux de résistance très élevé avec 92.6%.

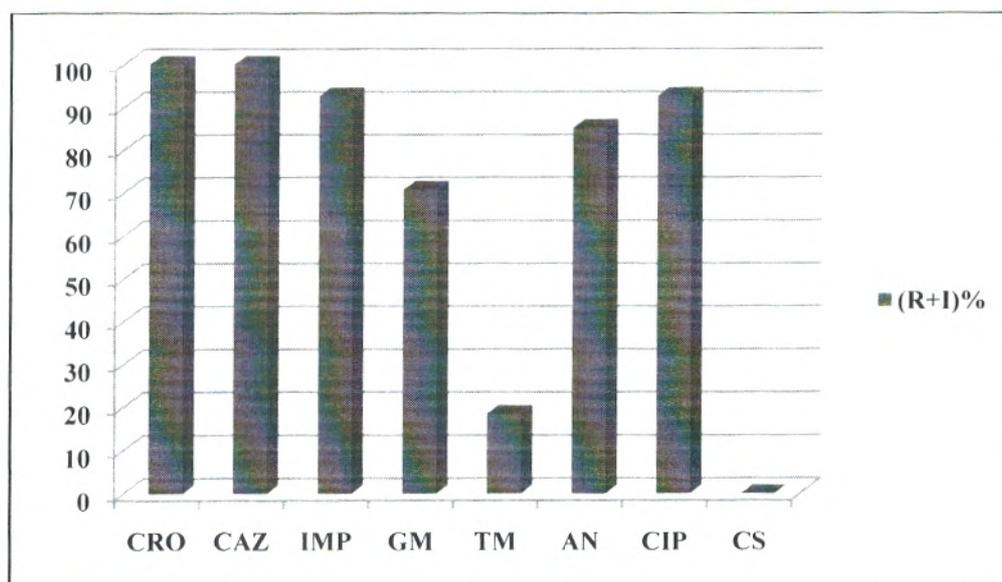


Figure 18. Pourcentages de résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii*.

1.3.2 Résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*

Sur l'ensemble des souches de *Pseudomonas aeruginosa* étudiées, les résultats (figure 19) révèlent une très bonne activité de l'amikacine et la colistine avec 100% de bactéries sensibles. Pour les autres antibiotiques, les taux de résistance sont les suivants : imipénème (76.47%), ceftazidime (11.76%), ciprofloxacine (29.41%) et gentamicine (23.52%).

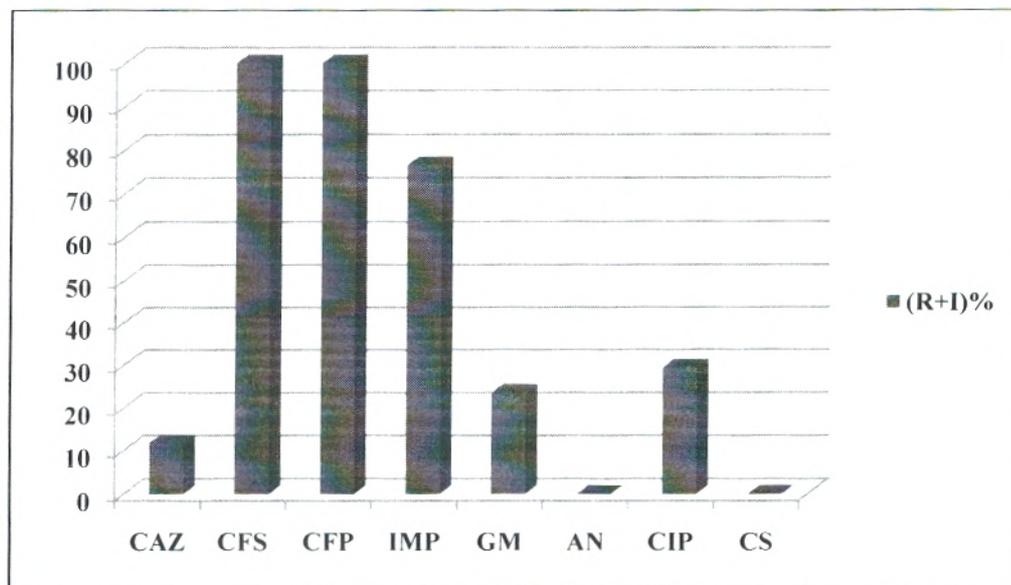


Figure 19. Pourcentages de résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa*.

L'analyse des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées du service de réanimation au CHU de Tlemcen (figure 20), montre une nette dominance des souches présentant le phénotype perte OprD (76.4%). Parmi ces souches, une produit également une céphalosporinase (5.9%). L'hyperproduction de céphalosporinases comme seul mécanisme de résistance est observée chez seulement une souche (5.9%). Enfin, 3 souches, soit 17.6% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* n'ont présenté aucune résistance acquise, donc considérées comme « sauvages ».

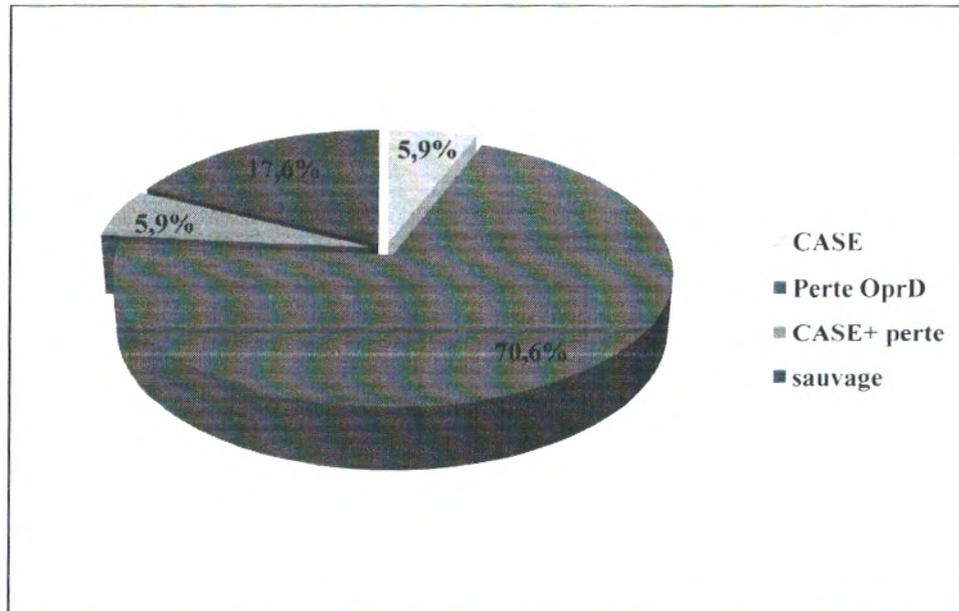


Figure 20. Distribution des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *P. aeruginosa*

L'ensemble des souches présentant le phénotype perte OprD sont caractérisées par une résistance isolée à l'imipénème (figure 21), alors que la souche de phénotype céphalosporinase +perte OprD présente une résistance à la ceftazidime et à l'imipénème (figure 22). Enfin, la souche présentant le phénotype céphalosporinase montre une résistance à la ceftazidime (figure 23).

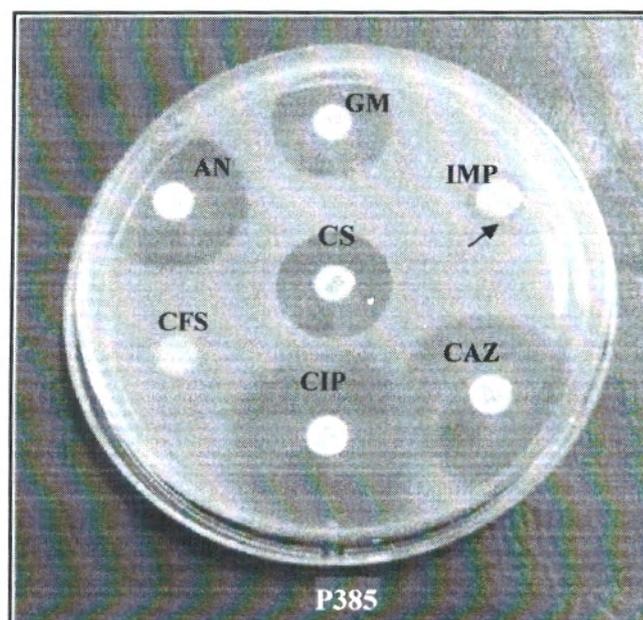


Figure 21. Phénotype « perte OprD » chez *P. aeruginosa*

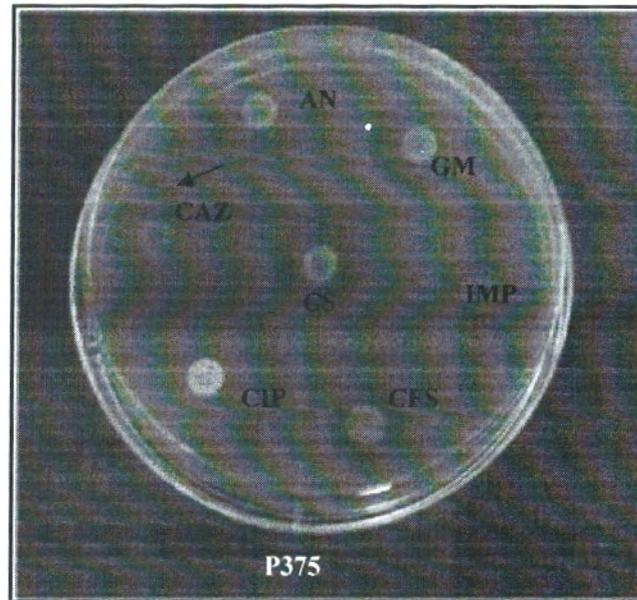


Figure 22. Phénotype «perte OprD+céphalosporinase» chez *P. aeruginosa*

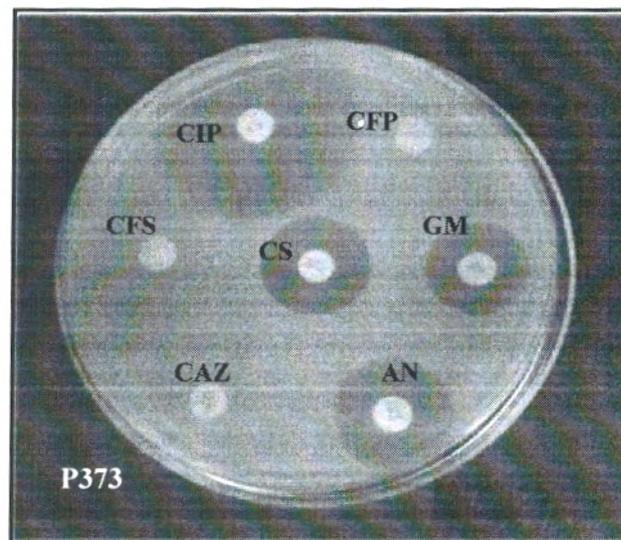


Figure 23. Phénotype «céphalosporinase» chez *P. aeruginosa*

#### 1.4 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

L'analyse des résultats de CMI pour deux antibiotiques (imipénème et ceftazidime) effectuée en milieu solide a concerné 44 souches dont 27 *Acinetobacter baumannii* et 17 *Pseudomonas aeruginosa*.

**1.4.1 *Acinetobacter baumannii***

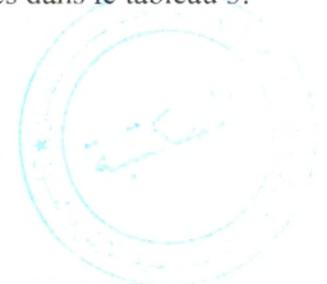
Les résultats de CMI (tableau 2) montrent un niveau de résistance très élevé à la ceftazidime pour l'ensemble des souches étudiées (>512), alors que les niveaux de résistance à l'imipénème sont très variables.

**Tableau 2. Résultats des CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des souches d'*Acinetobacter baumannii***

Souches	IMP $\leq 2 > 8$	CAZ $\leq 4 > 8$
A193	1	64
A194	64	128
A195	2	64
A196	256	>512
A197	256	>512
A198	128	>512
A199	128	>512
A200	64	128
A201	128	>512
A202	128	>512
A203	128	>512
A204	128	128
A205	64	>512
A206	64	>512
A207	128	>512
A208	64	>512
A209	64	>512
A210	32	>512
A211	64	>512
A212	64	>512
A213	128	>512
A214	128	>512
A215	128	256
A216	128	>512
A217	128	>512
A218	64	128
A219	64	>512

**1.4.2 *Pseudomonas aeruginosa***

Les intervalles des CMI observés pour chaque phénotype sont consignés dans le tableau 3. Les résultats détaillés pour toutes les souches sont présentés en annexe 7.



**Tableau 3. Intervalles de CMI des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (µg/ml) observés en fonction des phénotypes de résistance aux β-lactamines**

Phénotypes Antibiotiques	CASE	Perte OprD	CASE+perte OprD	Sauvage
IMP ≤4 >8	2	32	32	0.5-4
CAZ ≤8 >8	32	1-4	16	≤0.25-4

Les résultats de CMI (tableau 3, annexe 7) montrent un niveau de résistance élevé à l'imipénème pour l'ensemble des souches testées, alors que les niveaux de résistance à la ceftazidime sont très variables.

Les CMI notées pour l'imipénème sont plus importantes par rapport à la ceftazidime chez les souches de phénotype perte OprD, alors que le niveau de résistance à la ceftazidime est plus élevé chez les souches produisant uniquement des céphalosporinases.

### 1.5 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la colistine par méthode E-test

Nous avons testé la sensibilité des souches étudiées vis-à-vis de la colistine par la méthode E-test afin de déterminer les CMI de cet antibiotique.

Les résultats révèlent une excellente activité de la colistine vis-à-vis des souches d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* testées (la CMI pour l'ensemble des souches = 0.5µg/ml) (figure 24) ce qui correspond aux résultats des antibiogrammes avec 100% de souches sensibles.



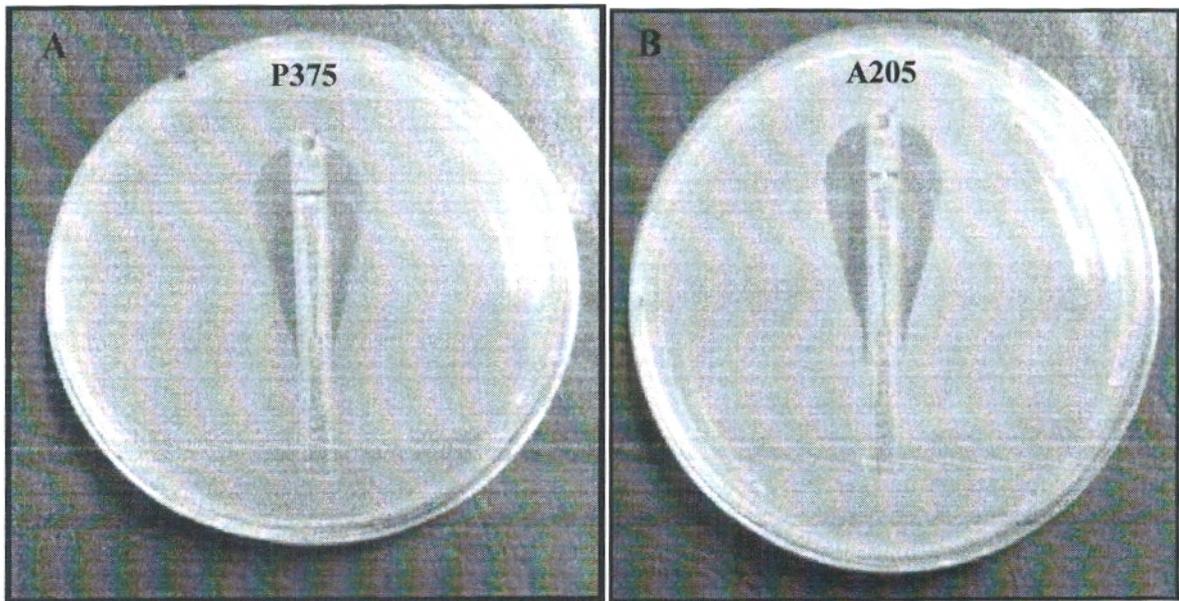


Figure 24. Résultats du E-test pour la colistine

(A) *Pseudomonas aeruginosa*, (B) *Acinetobacter baumannii*.

## 2. Discussion

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales sévères (**McGowan, 2006**). Ces bactéries manifestent vis-à-vis des antibiotiques un pouvoir d'adaptation de plus en plus grand. L'émergence de la résistance aux antibiotiques notamment aux  $\beta$ -lactamines constitue un véritable défi qui conduit à des impasses thérapeutiques (**Grall et al., 2011**). Cette situation impose une évaluation régulière de leur sensibilité aux antibiotiques. Ainsi, un total de 64 bacilles à Gram négatif ont été isolés à partir du service de réanimation au niveau du CHU de Tlemcen, dont 20 appartiennent au groupe des entérobactéries et 44 au groupe des non fermentants, ce qui correspond à des fréquences d'isolement de 31.7% et 69.8% respectivement, contrairement à ce qui a été trouvé dans une étude réalisée au même laboratoire par **Sefraoui (2011)** dont la fréquence d'isolement des entérobactéries (58.33%) a été supérieure à celui des BGNnF (40%).

Notre étude a montré qu'à partir des prélèvements effectués au niveau du service de réanimation, *Acinetobacter baumannii* représente plus de 60% des souches isolées du groupe des bactéries non fermentantes avec une fréquence d'isolement de 42,9%, alors que la fréquence d'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* est moins importante (27%), ce qui concorde bien avec ceux obtenus en Tunisie (**Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010**) et au Maroc (**Elouennass et al., 2008**). ces fréquences importantes d'isolement des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* sont liées aux principaux facteurs de risque dans ce service (la ventilation assistée, l'antibiothérapie à large spectre, la durée de séjour prolongée, le cathétérisme artériel et la sévérité de la pathologie sous-jacente) (**Lahsoun et al., 2007**) ainsi que le non respect des règles d'hygiène (**Boutiba et al., 2003**).

La répartition des espèces isolées diffère selon le site de prélèvement. En effet, notre étude montre une prédominance des souches d'*Acinetobacter baumannii* au niveau du prélèvement trachéal et des sondes vésicales avec des taux de 54.2 % et de 60% respectivement. Ces résultats concordent bien avec ceux rapportés par de nombreux auteurs (**Appleman et al., 2000**).

*Acinetobacter baumannii* pose de grands problèmes thérapeutiques partout dans le monde, la résistance naturelle et la grande diversité des plasmides confèrent à cette bactérie un grand potentiel d'acquisition des résistances, par ailleurs, l'utilisation croissante d'antibiotiques à large spectre sélectionne les souches multirésistantes (**Chastre, 2003**). La

résistance touche de nombreuses classes d'antibiotiques : les  $\beta$ -lactamines, les aminosides et les fluoroquinolones (**Chbani et al., 2004, Picazo et al., 2006**). Le premier fait marquant de notre étude est le taux de résistance élevé de cette souche aux  $\beta$ -lactamines, dont le taux de résistance à l'imipénème (92.6 %) dépasse celui rapporté par **Mesli (2010)** (57%) et **Sefraoui (2011)** (33.33%). Cette évolution est probablement liée à la prescription empirique et non contrôlée de l'imipénème et des céphalosporines de troisième génération. En effet, différentes études ont confirmé la relation entre la pression exercée par l'utilisation des céphalosporines de troisième génération et la sélection de souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes à l'imipénème (**Elouennass et al., 2003**). Par ailleurs, la vitesse d'évolution des résistances et la pression de sélection exercée par la prescription abusive et inappropriée d'imipénème nous poseront dans un proche avenir le problème de traitement des infections à souches multirésistantes. Pour les aminosides, la résistance d'*Acinetobacter baumannii* a connu depuis 1980, une évolution très brutale (**Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010**). Dans notre étude le taux de résistance des isolats d'*Acinetobacter baumannii* aux aminosides est très élevé. L'amikacine et la gentamycine, sont les deux aminosides les plus touchées par la résistance avec respectivement des taux de 85.18% et 70.73%, tandis que la tobramycine reste la molécule la plus active. Le taux élevé de résistance est constaté également pour la ciprofloxacine (92.6%). Il dépasse celui d'une étude européenne qui est de 53% (**Turner et al., 2003**) et 64.3% d'une étude tunisienne (**Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010**).

Concernant la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, les taux de résistance sont très inférieurs à ceux observés pour *Acinetobacter baumannii*. Le bacille pyocyanique constitue une cause majeure de mortalité en milieu hospitalier (**Boutiba-Ben Boubaker et al., 2003**). Ce germe est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques par 3 mécanismes principaux : la faible perméabilité pariétale, l'inactivation enzymatique et les systèmes de pompes à efflux actif. L'acquisition de nouvelles résistances est facile et rapide, favorisée en milieu hospitalier par une forte concentration bactérienne et une pression de sélection par les antibiotiques, notamment ceux à large spectre. Cette résistance acquise peut toucher toutes les molécules y compris l'imipénème (**Boutiba-Ben Boubaker et al., 2003**). La résistance du pyocyanique à l'imipénème a augmenté de manière alarmante ces dernières décennies (**Lahsounne et al., 2007**). Notre étude a révélé que le taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à cet antibiotique est de 76.47%. Les fréquences des souches résistantes à l'imipénème et au ceftazidime dans notre étude paraissent très différentes et

même supérieures à celles rapportées par **Hamberger et al. (2001)** et **Mérens et al. (2011)**. Cette résistance pourrait être due à un défaut de pénétration suite à une perte de la porine OprD ou d'une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC. L'utilisation de l'imipénème pour le traitement des infections à *P. aeruginosa* dans ce service pourrait être un facteur de risque pour la sélection de ce mécanisme de résistance (**Achour et al., 2006**). Pour ce qui concerne les autres classes d'antibiotiques, l'amikacine, la gentamycine et la ciprofloxacine gardent une bonne activité contre les souches de *P. aeruginosa* étudiées avec respectivement des taux de 100%, 76.48% et 70.6% de bactéries sensibles ce qui concorde bien avec ceux obtenus en Amérique (**Lockhart et al., 2007**).

Les résultats cités ci-dessus montrent que les fréquences des souches multirésistantes d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* augmentent de façon inquiétante au niveau du service de réanimation au CHU de Tlemcen. Cependant, aucune résistance à la colistine des souches étudiées n'a été retrouvée. Ceci correspond aux résultats obtenus en Tunisie (**Naija et al., 2009**), en Turquie (**Simirtas et al., 2009**) et en Grèce (**Evangelos et al., 2001**).

La colistine est un antibiotique, complexe comme aucun autre difficile à utiliser. Elle ne doit être utilisée qu'en cas d'absolue nécessité, uniquement après isolement de la souche responsable de l'infection et détermination de la sensibilité *in vitro* confirmant à la fois la résistance aux autres antibiotiques et la sensibilité à la colimycine (**Cohen, 2010**). En réanimation, cet antibiotique initialement abandonné pour sa toxicité potentielle (**Landman et al., 2008**), revient en première ligne pour le traitement des infections à *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* multirésistants (**Frasca et al., 2008**). Dans le contexte d'augmentation de l'incidence des infections nosocomiales par BGN multirésistants associé à l'appauvrissement des filières classiques de développement des antibiotiques et en attendant que les promesses des biotechnologies se concrétisent, il apparaît important de préserver un antibiotique de recours tel que la colistine (**Kipnis et Guery, 2010**). Il est donc urgent de mettre en place des essais cliniques afin d'optimiser, grâce aux modélisations pharmacocinétiques pharmacodynamiques, les schémas posologiques (**Frasca et al., 2008**).



# Conclusion

L'émergence et la diffusion des bacilles à Gram négatif non fermentants ayant acquis des mécanismes de résistance aux antibiotiques dans les services de réanimation, est devenue un problème de santé publique préoccupant (**Guillemot, 2006**).

Notre étude nous a permis d'évaluer l'état actuel de la résistance aux antibiotiques de 44 BGNnF isolés au niveau du service de réanimation au CHU de Tlemcen. En effet, les résultats montrent que les fréquences d'isolement des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* sont très importantes, ainsi que les niveaux de résistance vis-à-vis de certaines classes d'antibiotiques comme l'imipénème sont devenus inquiétants. Les taux de résistance des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* sont très inférieurs par rapport à ceux observés pour *Acinetobacter baumannii*. Toutefois, aucune souche résistante à la colistine n'a été isolée. Par ailleurs, l'augmentation de l'usage de cette molécule pour le traitement des infections à souches multirésistantes pourrait être à l'origine de l'apparition de résistances qui posera un véritable problème dans un proche avenir.

En fin, la pression de sélection exercée par l'usage abusif des antibiotiques à large spectre serait à l'origine de l'émergence préoccupante des BGNnF multirésistants au CHU de Tlemcen. De plus, les procédures invasives (pose de sonde, intubation et ventilation artificielle) sont d'importants éléments à considérer (**Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010**). Ainsi, les efforts déployés pour lutter contre les infections nosocomiales aux BGNnF doivent être maintenus voire soutenus dans nos hôpitaux, en particulier dans les services de soins intensifs. La maîtrise de la prescription des antibiotiques, l'application des règles élémentaires d'hygiène hospitalière et le dépistage des patients porteurs de bactéries multirésistantes sont autant de stratégies à mettre en œuvre pour limiter la dissémination de ces souches.



1. Achour W., Abbassi M. S., Cherif A., Jabnoun S., Khrouf. N., Ben Hassen A. (2006). Épidémie d'infection respiratoire à *Pseudomonas aeruginosa* O:12 résistante à l'imipénème dans une unité de réanimation néonatale à Tunis. *Pathologie Biologie*. 54 : 596–599.
2. Adjidé C.C., De Meyer A., Weyer M., Obin O., Lamory F., Lesueur C., Trouillet L., Biendo M., EB F., Ganry O. (2009). Évaluation des risques microbiologiques hydriques associé à *Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas aeruginosa* au CHU d'Amiens *Pathologie Biologie*. 58 :e1- e5.
3. Appleman M.D., Belzberg H., Citron D., Heseltine P., Berne T. (2000). In vitro activities of non-traditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 44(4):1035–40.
4. Ben Haj Khalifa A., Khedher M. (2010). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Médecine et maladies infectieuses*. 40 : 126–128.
5. Berthelot P., Grattard F., Mallaval FO., Ros A., Lucht F., Pozzetto B. (2005). Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*. 53:341–348.
6. Boffi El Amari E. (2004). Traitement et pronostic de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Faculté de Médecine-Université de Genève.
7. Boutiba-Ben Boubaker I., Boukadida J., Triki O., Hannachi N., Ben Redjeb S. (2003). Épidémie d'infections urinaires nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant aux antibiotiques. *Pathologie Biologie*. 51: 147–150.
8. CA-SFM. (2008). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.
9. Cavallo JD., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E. (2004). Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*. 1: 129–202.
10. Chaabane A., Aouam K., Boughattas NA., Chakroun M. (2009). Allergie aux bêtalactamines : mythe et réalités. *Médecine et maladies infectieuses*. 39 : 278–287.

11. **Chalot F Bureau., Piednoir E., Pierrat C., Santerne B.,Bajole O. (2003).** Épidémie nosocomiale à *Burkholderia cepacia* dans une unité de réanimation infantile. Archives de pédiatrie. 10: 882–886.
12. **Charlier P., Coyette J., Dehareng D., Dive G., Duez C., Dusart J., Fonzé E., Fraipont C., Frère J. M., Galleni M., Goffin C., Joris B., Lamotte-Brasseur J., Nguyen-Distèche M. (1998).** Résistance bactérienne aux beta-lactamines. Médecine /sciences. 14: 544-55.
13. **Chastre J. (2003).** Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. Sem Respir Crit Care Med. 24:69–77.
14. **Chbani F., Zoughaghi L., Taouragt K., Aarab H., Benaouda A. (2004).** *Acinetobacter baumannii* : épidémiologie et résistance aux antibiotiques. Prat .14(2): 23–4.
15. **Cohen R. (2010).** Colimycine : un vieil antibiotique qu'il faut apprendre à connaître. Archives de Pédiatrie.17:S171-S176.
16. **Dalamaga Maria., Karmaniolas Konstantinos., Chavelas Charilaos ., Liatis Stavros., Matekovits Helen ., Migdalis Ilias. (2003).** *Stenotrophomonas maltophilia*: a serious and rare complication in patients suffering from burns. Burns. 29 :711–713.
17. **De Wals P.Y. (2007).** Analyses mutationnelles et cinétiques de la  $\beta$ -lactamase TEM-1 d'*Escherichia coli* : Vers une meilleure compréhension du phénomène de résistance aux antibiotiques, Université de Montréal, département de biochimie, Faculté de médecine. P 164.
18. **Elouennass M., Bajou T., Lemnouer A. H., Foissaud V., Hervé V., Baaj A.J. (2003).** *Acinetobacter baumannii* : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction MohammedV, Rabat, Maroc. Médecine et maladies infectieuses. 33 : 361–364.
19. **Elouennass M., Sahnoun I., Zrara A., Bajjou T., Elhamzaoui S. (2008).** Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). Médecine et maladies infectieuses. 38: 18–24.
20. **Enoch D.A., Birkett C I., Ludlam H A. (2007).** Non-fermentative Gram-negative bacteria. International Journal of Antimicrobial Agents. 3: S33–S41.

21. **Evangelos J., Giamarellos Bourboulis., Evangelia Xirouchaki., Helen Giamarellou. (2001).** Interactions of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.40: 117–120.
22. **Eyquem André., Luc Montagnier. (2000).** *Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments.* pp43.
23. **Falagas Matthew E., Kasiakou Sofia K. (2005).** Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 40:1333–41.
24. **Falagas Matthew E., Rafailidis Petros I., Matthaïoua Dimitrios K. (2010).** Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates*. 13:132–138.
25. **Faure Sébastien. (2009).** Les aminosides. *Actualités pharmaceutiques*.480 : 49-53.
26. **Faure Sébastien. (2008).** Les quinolones et fluoroquinolones. *Actualités pharmaceutiques*. 447 :41-43.
27. **Flandrois Jean Pierre. (1997).** *Bactériologie médicale.* pp 83.
28. **Floret N., Bertrand X., Thouverez M., Talon D. (2009).** Infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? *Pathologie Biologie*. 57: 9–12.
29. **Fomba Modibo. (2006).** Rôle pathogène et sensibilité aux Antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus a coagulase négative* à l'hôpital du point G. Thèse de doctorat en pharmacie.
30. **Frasca D., Dahyot Fizelier C., Mimos O. (2008).** La colistine en réanimation. *Réanimation*. 17 : 251-258.
31. **Ganapathy H., Pal SK., Teare L., Dziejulski P.(2010).** Use of colistin in treating multi-resistant Gram-negative organisms in a specialised burns unit. *Burns*. 36: 522– 527.
32. **Gellen-Dautremer Justine. (2007).** Bactériémie à *Pseudomonas aeruginosa* en médecine interne : revue rétrospective de 51 épisodes. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine Paris.

- 33. Giamarellou Helen., Anastasia Antoniadou., Kyriaki Kanellakopoulou. (2008).** *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? International Journal of Antimicrobial Agents. 32:106–119.
- 34. Gordon Nicola C., Warehama David W. (2010).** Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. International Journal of Antimicrobial Agents. 35: 219–226.
- 35. Gooderham James W., Hancock Robert EW. (2009).** Regulation of virulence and antibiotic resistance by two-component regulatory systems in *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiol Rev. 3: 279-294.
- 36. Grall N., Andreumont A., Armand-Lefèvre L. (2011).** Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? Journal des Anti-infectieux. 13 : (2) 87-102.
- 37. Guillemot Didier. (2006).** Infection nosocomiale et résistance bactérienne aux antibiotiques. Revue Française des laboratoires.6.
- 38. Hanberger H., Diekma D., Fluit A., Iones R., Struelens M., Spencer R. (2001).** Surveillance of antibiotic resistance in European ICU. J Hosp Infect. 48:161–76.
- 39. Henry D A., Mahenthiralingam E., Vandamm P., Coenye T., S peer D P. (2001).** Phenotyp methods for determining genovar status of *Burkholderia cepacia* complex. J.lin.Microbiol, 39; 1073-1078.
- 40. Kazmierczak A. (1999).** Inhibiteurs des B-lactamases. In : Bryskier. A. Antibiotiques Agents antibactériens et antifongiques. Paris : Ellipses. P : 446-457.
- 41. Khan F Y., Abukhattab M., Baager K. (2012).** Nosocomial postneurosurgical *Acinetobacter baumannii* meningitis: a retrospective study of six cases admitted to Hamad General Hospital, Qatar. Journal of Hospital Infection. 80 :176-179
- 42. Kipnis E., Guery BP. (2010).** Réévaluation de la colistine. Antibiotiques.12 : 205-227.
- 43. Kipnis E., Sawa T, Wiener Kronish J. (2006).** Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. Med. Mal Infect. 36:78-91.
- 44. Lahlou Amin I., Salord H., Gille Y., Roure C., Tigaud S., Bajou T., Rtabi N., Kassmi HL. (2008).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipinème : clone émergent en milieu hospitalier. Les technologies de laboratoire. 11 :4-9.

- 45. Lahsoun M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H., El Mdaghri N. (2007).** Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Médecine et maladies infectieuses*. 37 : 828–831.
- 46. Landman David., Georgescu Claudiu., Martin Don Antonio. (2008).** Polymyxins Revisited. *Clin. Microbiol. Rev.* 21(3):449- 465.
- 47. Lavigne J.P. (2007).** Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
- 48. Lavigne JP., Gaillard JB., Bourg G., Tichit C., Lecaillon E., Sotto A. (2008).** Étude de souches de *Stenotrophomonas maltophilia* sécrétrices de BLSE : détection de CTX-M et étude de la virulence. *Pathologie Biologie*. 56:447–453.
- 49. Lazdunski A. (2003).** *Pseudomonas aeruginosa* : modèle de choix pour l'étude d'une bactérie pathogène opportuniste. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 22 :523–526.
- 50. Liaw S. j., Lee Y. L., Hsueh P. R. (2010).** Multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucomutase (SpgM), and melanin and biofilm formation. *International Journal of Antimicrobial Agents* . 35 :126–130.
- 51. Li Jian., Nation Roger L., Milne Robert W., Turnidge John D, Coulthard Kingsley. (2005).** Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 25:11–25.
- 52. Li Jian., Nation Roger L., Turnidge John D., Milne Robert W., Coulthard Kingsley., Rayner Craig R., Paterson David L. (2006).** Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*. 6:589–601.
- 53. Lockhart S. R., Abramson M. A., Beekmann S. E. (2007).** Antimicrobial resistance among Gram negative bacilli causing infections in intensive care units patients in the United States between 1993 and 2004. *J Clin Microbiol*. 45:3352-9.
- 54. Looney W John., Masashi Narita., Mühlemann Kathrin. (2009).** *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *Lancet Infect Dis*. 9: 312–23.

- 55. Matthaiou DK., Chasou E., Atmatzidis S., Tsolkas P. (2011).** A case of bacteremia due to *Burkholderia cepacia* in a patient without cystic fibrosis. *Respiratory Medicine CME*. 4:144-145.
- 56. McGowan John E. (2006)** Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: Multidrug resistance to the maximum. *The American Journal of Medicine*. 119:S29–S36.
- 57. Meghdas I., Loïez C., Baïda N., Dabboussi F., Hamze M., Husson MO., Izard D. (2004).** Épidémiologie des infections provoquées par les bactéries du « complexe *Burkholderia cepacia* » au cours de la mucoviscidose. *Archives de pédiatrie*. 11 : 360–366.
- 58. Mérens Audrey., Delacoura Hervé., Plésiat Patrick., Cavallo Jean-Didier., Jeannot Katy. (2011).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires* .435 : 49-62.
- 59. Mesli A. (2010).** Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* au CHU de Tlemcen. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- 60. Minchella A., Molinari L., Alonso S., Bouziges N., Sotto A., Lavigne JP. (2010).** Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie Biologie*. 58 : 1–6.
- 61. Naija W., Chemchikh H., Farhat I., Bouallegue O., Toumi M., M'barek B., Ben Salma A., Chelbi S., Chaouch A., Saïd R. (2009).** Rifampicine-colistine intraveineuse pour le Traitement des infections à *Acinetobacterbaumannii* multirésistant. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 2 : 15 – 18.
- 62. Nordmann P. (2006).** L'émergence de la résistance plasmidique aux quinolones chez les entérobactéries. *Pathologie Biologie*. 54 : 7–9.
- 63. Nordmann P., Carrer A. (2010).** Les carbapénèmes des entérobactéries. *Archives de Pédiatrie*. 17:S154-S162.
- 64. Nukaga M., Mayama K., Hujer A M., Bonomo R A., Knox J R. (2003).** Ultrahigh resolution structure of a class A beta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extended-spectrum SHV-2 enzyme. *J. Mol. Biol.* 328: 289-301.



65. Page Clive P., Curtis Michael J., Sutter Morley C. (1999). Pharmacologie intégrée. pp 419.
66. Perronne Christian. (1999). Maladies infectieuses, Volume 1. pp 65.
67. Picazo J. J., Betriu C., Rodriguez-Avial I., Culebras E., Gomez M., Lopez F. (2006). Antimicrobial resistance surveillance: Vira study 2006. *Infect Microbiol Clin*. 24(10): 617–28.
68. Richard. (2005). Génomique fonctionnelle *in vivo* de l'oxydoréductase PA 3498 chez *Pseudomonas aeruginosa*. Maitrise en microbiologie-immunologie.
69. Richard C., Keredjian M. (1995). Méthodes de Laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif aérobies stricts : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. *Inst. Pasteur* 2<sup>e</sup> édition. 2 : 22-26.
70. Richet H. (2003). Prise en charge d'une épidémie à *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 22 : 544–547.
71. Sefraoui I. (2011). Épidémiologie de la résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants aux antibiotiques au CHU de Sidi Bel Abbes. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
72. Segonds C., Marty N., Agueda L., Chabanon G. (1995). *Pseudomonas cepacia*: la percée d'un opportuniste. *Revue française des laboratoires*. 247 : 87-93.
73. Smirtas Melda., Akahm Halis., Gedikoglu Suna. (2009). Investigation of colistin sensitivity via three different methods in *Acinetobacter baumannii* isolates with multiple antibiotic resistance. *International Journal of Infectious Diseases*. 13: e217- e220.
74. Skiada Anna., Markogiannakis Antonis., Plachouras Diamantis., Daikos George L. (2011). Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 37: 187–193.
75. Szalo IM., Taminiau B., Mainil J. (2006). Le lipopolysaccharide d'*Escherichia coli* : structure, biosynthèse et rôles. *Ann. Méd. Vét.* 150 : 108-124.
76. Tulkens P., Spinewine A. (2002). Pharmacologie spéciale-Les aminoglycosides.
77. Turkoglu Melda., Dizbay Murat., Arzu C., Nur Aksakal F., Gülbin Aygencel. (2011). Colistin therapy in critically ill patients with chronic renal failure and its effect on

development of renal dysfunction. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 39: 142-145.

**78. Turner P.J., Greenhalgh J.M. (2003).** The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals. *Clin Microbiol Inf*. 9:563-7.

**79. World Health Organization. (2004).** Guidelines for Drinking-water Quality: Recommendations. pp 237.

**80. Yala D., Merad A.S., Mohameddi D., Ooar Korich M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Ed Médecine du Maghreb. N°91 :1.

**81. Yemisen Mucahit., Bilgul Mete., Yusuf Tunali., Ercument Yentur., Recep Ozturk. (2008.)** A meningitis case due to *Stenotrophomonas maltophilia* and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*.12 : e125-e127.

**82. Yétérian Emilie. (2010).** Bases moléculaires de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg.

**83. Wolff M., Joly-Guillou ML., Pajot O. (2009).** Les carbapénèmes. *Rénimation*. 18: S199-S208.

**84. Zohoun A., Dao I., Karfo R., Essayagh T., Sekhsokh Y, Bousta M, ElHamzaoui S. (2011).** Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie: à propos d'un cas Nosocomial. *Pathologie Biologie*. 29-31.

Annexe 1. Tableau de lecture d'une galerie API 20 NE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolore	rose-rouge
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptOphane)	Zn / 5 min	
				rose	incolore
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	JAMES / immédiat	
				bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gns / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Annexe 2. Tableau d'identification du catalogue analytique API 20 NE

API 20 NE	V7.0	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLUa	ARAa	MNEa	MANa	NAGa	MALa	GNTa	CAPa	ADLa	M.LTa	CrTa	PACa	OX
<i>Achromobacter denitrificans</i>		93	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	86	20	96	99	94	93	100
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>		81	0	0	1	0	0	1	0	99	0	30	1	1	1	100	81	94	99	98	96	100
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>		2	0	8	0	1	1	1	0	67	70	1	1	1	1	20	98	80	100	99	87	0
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>		1	0	14	0	0	0	96	0	1	0	0	0	0	0	0	99	2	99	81	1	0
<i>Acinetobacter junii/Johnsonii</i>		1	0	0	0	1	0	0	0	24	8	2	0	0	0	0	99	4	95	70	0	0
<i>Acinetobacter wuifii</i>		3	0	0	0	2	0	0	0	11	1	0	1	1	0	0	70	20	46	1	36	0
<i>Acinetobacter radiorepens</i>		2	2	0	2	0	0	0	0	19	2	0	0	2	0	0	97	100	2	2	97	0
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>		99	89	99	78	1	89	97	98	99	80	78	99	99	99	95	84	1	99	37	1	99
<i>Aer. salmonicida</i>		100	21	9	0	0	2	33	0	66	0	33	50	2	21	2	0	0	2	0	0	100
<i>Aeromonas salmonicida ssp. salmonicida</i>		100	0	57	36	0	100	99	18	84	1	0	96	84	99	99	0	1	99	1	0	100
<i>Aeromonas sobria</i>		100	86	96	86	0	1	99	99	100	12	99	99	99	100	100	93	0	99	81	0	100
<i>Alcaligenes faecalis 1</i>		1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	3	77	7	100	97	97	98
<i>Alcaligenes faecalis 2</i>		78	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	99	73	91	100	69	73	100
<i>Bergeyella zoohelcum</i>		0	0	0	0	99	0	74	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	99
<i>Bordetella avium</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	99	100	100	100	100	95
<i>Bordetella bronchiseptica</i>		76	0	0	0	96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	94	85	91	80	100	100
<i>Brevundimonas diminuta/ligella urethralis</i>		1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	1	99	33	0	100
<i>Brevundimonas vesicularis</i>		16	0	0	0	0	98	12	34	72	1	1	3	10	72	1	1	1	40	0	0	98
<i>Burkholderia cepacia</i>		39	0	24	1	1	46	70	72	100	75	99	96	99	8	97	99	93	100	99	99	91
<i>Burkholderia pseudomallei</i>		100	0	0	98	0	5	100	0	100	0	99	100	100	0	100	100	99	100	99	94	100
<i>Chromobacterium violaceum</i>		97	1	99	100	0	0	100	0	100	0	66	10	97	0	100	75	0	100	36	0	97
<i>Chryseobacterium indologenes</i>		20	81	1	0	70	98	99	22	55	12	37	1	0	66	1	0	1	12	12	99	99
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		0	83	1	0	5	99	95	93	86	1	80	76	70	61	0	0	1	25	0	99	99
<i>Comamonas testosteroni/PS. alcaligenes</i>		75	0	0	6	4	0	4	1	11	3	3	4	1	2	42	55	38	87	32	3	98
<i>Deiftia acidovorans</i>		96	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	76	0	0	99	71	89	99	28	83	100
<i>Grimontia holisae</i>		100	100	31	0	0	0	0	3	10	67	68	0	24	1	41	0	0	94	0	0	100
<i>Mannheimia haemolytica / Pasteurella tetraxia</i>		95	0	2	0	0	2	0	85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>		21	0	0	0	76	0	0	0	21	49	0	0	1	0	7	0	5	75	8	0	99
<i>Moraxella lacunata</i>		90	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	99	99
<i>Moraxella spp</i>		34	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	17	1	0	1	1	99
<i>Myroides spp</i>		0	1	0	0	94	1	99	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	100
<i>Nitrosobacterium anthropi</i>		80	0	0	0	84	1	0	1	82	75	60	20	75	76	34	34	4	99	47	1	99
<i>Nitrosella ureolytica</i>		71	0	0	0	99	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	95	95	26	96	96
<i>Pasteurella aerogenes</i>		100	0	97	0	100	0	0	100	99	75	97	1	80	99	97	0	0	95	0	0	77
<i>Pasteurella multocida</i>		96	96	1	0	0	0	10	1	0	2	1	1	2	1	0	1	1	0	0	86	86
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		100	61	26	0	85	0	0	83	6	1	6	0	6	3	6	0	1	6	0	84	84
<i>Pasteurella spp</i>		96	1	2	2	1	1	1	4	19	1	1	1	1	1	1	0	1	13	1	0	87
<i>Photobacterium damsela</i>		99	0	94	99	99	2	0	11	11	0	6	0	1	6	0	0	63	0	0	100	100
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		99	99	98	98	0	0	0	86	94	0	12	0	77	98	99	77	0	94	0	99	99
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		96	0	0	80	20	1	92	1	99	1	1	89	84	1	97	98	91	98	99	1	98
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		27	0	0	80	1	1	39	1	99	71	97	89	85	1	99	99	10	99	99	16	99
<i>Pseudomonas luteola</i>		78	0	13	71	1	100	30	98	99	99	99	88	12	76	85	62	1	94	94	1	2
<i>Pseudomonas mendocina</i>		100	0	0	94	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	99	100	0	100	100	0	100
<i>Pseudomonas oryzae</i>		0	0	0	0	1	0	11	1	100	99	99	100	0	84	99	88	2	99	99	0	1
<i>Pseudomonas putida</i>		3	0	1	88	1	0	0	1	99	56	57	5	2	1	97	99	1	100	99	58	99
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		94	0	0	1	1	0	1	0	98	1	10	67	0	75	87	87	1	99	85	1	100
<i>Psychrobacter phenylpyruvicus</i>		60	0	0	0	95	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	0	100
<i>Ralstonia picketti</i>		32	0	1	1	3	0	1	0	96	35	1	10	14	0	99	86	62	99	98	16	99
<i>Rhizobium radiobacter</i>		98	0	0	0	65	99	1	99	100	100	100	100	99	99	90	2	0	100	0	1	99
<i>Shewanella putrefaciens group</i>		96	0	1	0	1	71	95	0	6	11	0	0	95	10	1	71	1	90	2	0	100
<i>Sphingobacterium multivorum</i>		0	0	1	0	95	100	1	99	99	91	99	0	99	99	0	0	0	1	0	0	99
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>		0	0	0	0	1	100	0	100	100	1	99	10	100	100	0	0	0	0	0	0	99
<i>Sphingomonas pauromobilis</i>		10	0	0	0	1	97	1	90	99	83	75	15	64	95	34	9	3	61	45	1	73
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		37	1	0	0	0	99	99	87	84	3	95	2	98	99	2	1	0	99	98	0	7
<i>Vibrio alginolyticus</i>		98	93	93	0	0	65	91	10	76	1	18	75	57	74	76	1	0	99	1	0	99
<i>Vibrio cholerae</i>		99	100	99	0	0	1	99	99	88	0	30	78	75	97	98	1	0	99	97	1	100
<i>Vibrio metschnikovii</i>		0	50	64	0	0	7	100	50	100	0	71	99	99	99	17	0	99	50	0	0	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		99	99	100	1	6	1	98	97	90	81	82	99	51	98	90	0	1	99	21	1	99
<i>Vibrio vulnificus</i>		100	95	95	0	1	95	99	99	9	0	10	9	1	6	28	0	0	95	91	0	100
<i>Wautersia paucula</i>		1	0	0	0	23	0	1	0	1	1	0	1	0	1	89	89	86	99	96	14	98
<i>Weeksella virosa/Empedobacter brevis</i>		12	5	0	0	0	1	100	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	3	1	0	98

Vérifier la mobilité / Check the motility / Beweglichkeit überprüfen / Verificar la movilidad / Verificare la mobilità /

Verificar a mobilidade / Ελέγξε την κινητικότητα / Kontrollera mobiliteten / Kontrollérer mobiliteten / Sprawdzic zdolność do ruchu.

Mobilité / Motility / Beweglichkeit / Movilidad / Mobilità / Mobilidade / Κινητικότητα / Motiliet / Ruch	<i>Brevundimonas diminuta / vesicularis</i>	<i>Moraxella spp</i>
	+	-

**Annexe 3. Concentrations et diamètres critique et règles de lecture interprétative pour  
*Pseudomonas aeruginosa* (CA-SFM, 2010)**

Antibiotiques		Sigle	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
				S	R	S	R
Bêta-lactamines	Ceftazidime	CAZ	30µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19
	Cefsulodine	CFS	30µ	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
	Céfopérazone	CFP	10µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17
	Imipénème	IMP	10µg	≤ 4	> 8	≥ 22	< 17
Aminosides	Amikacine	AN	30µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
	Gentamicine	GM	15µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5µg	≤ 0.5	> 1	≥ 25	< 22
Polypeptides	Colistine	CS	50µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15

**Annexe 4. Concentrations et diamètres critique et règles de lecture interprétative pour *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas* spp et *Burkholderia cepacia* (CA-SFM, 2010)**

Antibiotiques		Sigle	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
				S	R	S	R
Bêta-lactamines	Ceftazidime	CAZ	30µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
	Ceftriaxone	CRO	30µ	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
	Imipénème	IPM	10µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17
Aminosides	Amikacine	AN	30µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
	Gentamicine	GM	15µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16
	Tobramycine	TM	10µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5µg	≤ 1	> 1	≥ 22	< 22
Polypeptides	Colistine	CS	50µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15

## Annexe 5. Préparation des solutions d'antibiotiques

Solution initiale (µg/ml)	Solution mère (ml)	Eau distillée stérile (ml)	Concentration obtenue (µg/ml)	Concentration finale dans le milieu (µg/ml)
5120	2	2	2560	256
5120	1	3	1280	128
5120	0.5	3.5	640	64
5120	0.5	7.5	320	32
320	2	2	160	16
320	1	3	80	8
320	0.5	3.5	40	4
320	0.5	7.5	20	2
20	2	2	10	1
20	1	3	5	0.5
20	0.5	3.5	2.5	0.25



## Annexe 6. Répartition des BGNnF selon la nature du prélèvement.

Espèces	Nombre des souches isolées par type de prélèvement (%)			
	Plaies	trachéal	Sonde vésicale	environnement
<i>A. baumannii</i>	2 (100)	13 (54.2)	6 (60)	6 (75)
<i>P. aeruginosa</i>	0 (0)	11 (45.8)	4 (40)	2 (25)
Total	2 (100)	24 (100)	10 (100)	8 (100)

Annexe 7. Résultats de CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de *Pseudomonas aeruginosa*

Souches	IMP $\leq 4 > 8$	CAZ $\leq 8 > 8$
P371	4	4
P372	32	2
P373	2	32
P374	0.5	$\leq 0.25$
P375	32	16
P376	4	4
P377	32	2
P378	32	2
P379	32	2
P380	32	4
P381	32	2
P382	32	2
P383	32	2
P384	32	1
P385	32	2
P386	32	2
P387	32	1



Annexe 8. Résultats des antibiogrammes d'*Acinetobacter baumannii*

Souches	CRO	CAZ	IMP	GM	TM	AN	CIP	CS
A193	R	R	S	S	S	S	S	S
A194	R	R	R	S	S	R	R	S
A195	R	R	S	R	S	S	R	S
A196	R	R	R	R	S	R	R	S
A197	R	R	R	R	R	S	R	S
A198	R	R	R	R	S	R	R	S
A199	R	R	R	R	S	R	R	S
A200	R	R	R	R	S	R	R	S
A201	R	R	R	R	S	R	R	S
A202	R	R	R	S	S	S	S	S
A203	R	R	R	R	S	R	R	S
A204	R	R	R	R	S	R	R	S
A205	R	R	R	S	S	R	R	S
A206	R	R	R	R	R	R	R	S
A207	R	R	R	R	S	R	R	S
A208	R	R	R	S	R	R	R	S
A209	R	R	R	S	S	R	R	S
A210	R	R	R	R	S	R	R	S
A211	R	R	R	R	S	R	R	S
A212	R	R	R	S	S	R	R	S
A213	R	R	R	R	S	R	R	S
A214	R	R	R	R	S	R	R	S
A215	R	R	R	R	S	R	R	S
A216	R	R	R	R	R	R	R	S
A217	R	R	R	R	S	R	R	S
A218	R	R	R	S	S	R	R	S
A219	R	R	R	R	R	I	R	S



Annexe 9. Résultats des antibiogrammes de *Pseudomonas aeruginosa*

Souches	CAZ	CFS	CFP	IMP	GM	AN	CIP	CS	Phénotype de résistance
P371	S	R	R	S	S	S	S	S	Sauvage
P372	S	R	R	R	S	S	S	S	Perte OprD
P373	R	R	R	S	S	S	S	S	CASE
P374	S	R	R	S	S	S	S	S	Sauvage
P375	R	R	R	R	S	S	S	S	CASE +perte
P376	S	R	R	S	R	S	R	S	Sauvage
P377	S	R	R	R	R	S	R	S	perte OprD
P378	S	R	I	R	S	S	S	S	perte OprD
P379	S	R	R	R	S	S	S	S	perte OprD
P380	S	R	R	R	S	S	S	S	perte OprD
P381	S	R	R	R	S	S	S	S	perte OprD
P382	S	R	R	R	S	S	S	S	perte OprD
P383	S	R	R	R	S	S	R	S	perte OprD
P384	S	R	I	R	S	S	I	S	perte OprD
P385	S	R	R	R	R	S	S	S	perte OprD
P386	S	R	R	R	S	S	S	S	perte OprD
P387	S	R	R	R	R	S	R	S	perte OprD



## ملخص

العصيات الغير مخمرة (BGNnF) هي جراثيم ممرضة إنتهازية مسؤولة أساسا عن الالتهابات المكتسبة. علاج هذه الالتهابات غالبا ما يكون صعبا، بسبب مقاومتهم الطبيعية والمكتسبة لكثير من المضادات الحيوية. مجموع 44 جرثوم من العصيات الغير مخمرة (BGNnF) (*Acinetobacter baumannii* et 17 *Pseudomonas aeruginosa*) تم عزلها على مستوى وحدة العناية المركزة بالمركز الاستشفائي الجامعي بتلمسان. دراسة مقاومة هذه الجراثيم للمضادة الحيوية اظهرت مقاومة عالية لسلالة *Acinetobacter baumannii* للمضادات الحيوية: (سفتازيديم و سفترياكسن (100%)، إيميبنام (92.59%)، أميكاسين (85.18%)، جنتاميسين (70.73%)، سيرفلوكسسين (92.59%)، في حين نسب مقاومة سلالة *Pseudomonas aeruginosa* للمضادات الحيوية، كانت كالتالي: سفيرازون (100%)، سفسلدين (100%)، إيميبنام (76.74%)، سفتازيديم (11.76%)، سيرفلوكسسين (29.41%)، جنتاميسين (23.52%)، أميكاسين (0%). لم يتم عزل أى سلالة مقاومة للكولستين.

الكلمات المفتاحية: العصيات الغير مخمرة، *Acinetobacter baumannii*، *Pseudomonas aeruginosa*، مقاومة، المضادة الحيوية، كولستين، وحدة العناية المركزة.

## Résumé

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont des pathogènes opportunistes responsables essentiellement d'infections nosocomiales. Le traitement de ces infections est souvent difficile, de par leur résistance naturelle et acquise à de nombreux antibiotique. Un total de 44 souches de bacilles à Gram négatif non fermentants (27 *Acinetobacter baumannii* et 17 *Pseudomonas aeruginosa*) ont été isolés à partir du service de réanimation au niveau du CHU de Tlemcen. L'étude de la résistance *in vitro* de ces germes vis-à-vis aux antibiotiques a révélé que les souches d'*Acinetobacter baumannii* présentent une forte résistance vis-à-vis aux antibiotiques testés (ceftazidime et ceftriaxone (100%), imipénème (92.59%), amikacine (85.18%), gentamycine (70.73%), tobramycine (18.51%), ciprofloxacine (92.59%), alors que les taux de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* étaient les suivants: céfopérazone (100%), cefsulodine (100%), imipénème (76.47%), ceftazidime (11.76%), ciprofloxacine (29.41%), gentamicine (23.52%), amikacine (0%). aucune souche résistante à la colistine n'a été isolée.

**Mots clés:** bacilles à Gram négatif non fermentants, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, résistance, antibiotiques, colistine, service de réanimation.

## Abstract

Non-fermentative Gram negative rods are opportunistic pathogens mainly responsible for nosocomial infections. Treatment of these infections is often difficult, because of their natural and acquired resistance to many antibiotics. A total of 44 strains of Non-fermentative Gram negative rods (27 *Acinetobacter baumannii* and 17 *Pseudomonas aeruginosa*) were isolated from the intensive care unit at the university hospital of Tlemcen. The study *in vitro* of resistance of these organisms to antibiotics revealed that strains of *Acinetobacter baumannii* have a high level resistance to antibiotics tested (ceftazidim and ceftriaxon (100%), imipenem (92.59%), amikacin (85.18%), gentamycin (70.73%), tobramycin (18.51%), ciprofloxacin (92.59%). The antibiotic resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa* were: cefoperazon (100%), cefsulodin (100%), imipenem (76.47%), ceftazidim (11.76%), ciprofloxacin (29.41%), gentamicin (23.52%), amikacin (0%). No colistin-resistant strain was isolated.

**Keywords:** Non-fermentative Gram negative rods *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance, antibiotics, colistin, intensive care unit.