

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

Etude de la résistance aux Antibiotiques chez
Acinetobacter baumannii

Présenté et soutenu par : Azizi Imene

Le : 15/06/2015

Touadjni Amina

Jury d'évaluation :

Président du jury : Satta Dalila (Professeur UFM Constantine).

Rapporteur : Gharzouli Razika (Maitre de conférence «B» UFM Constantine).

Examinatrice : Ziada Hadia (Maitre Assistante «A» UFM Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

Remerciement

El hamdoulillah, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir aidé dans notre travail.

En terminant notre mémoire de fin d'étude, il nous est agréable d'adresser nos vifs remerciements

À tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à élaborer cet ouvrage.

*Nous remercions en particulier notre présidente Mme **Satta D.***

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur Mme **Gharzouli R.***

*Nous remercions ainsi notre examinatrice Mme **Ziada H.***

*Nous n'oublierons pas de remercier monsieur **Laouar H** pour les efforts qu'il a fournis durant notre travail.*

Ainsi que tous nos professeurs qui nous a enseignés durant nos études à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

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

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit de mes études

A

Mes très chers et adorables parents qui m'ont soutenus jusqu'à la fin de mes études, qui m'ont aidés et entourer d'amour avec fierté.

Mes frères et sœurs en particulier Adel et Leïla qui m'ont toujours encouragé et aider dans tous mes recherches de mon parcours avec beaucoup de dévouement de tendresse et surtout d'amour et d'affection, qui ont toujours éclairé mon chemin.

Mes neveux et nieces.

Toute ma famille.

Mes amies et collègues.

Toute ma promotion de génétique des microorganismes.

IMENE

DEDICACE

Je dédie ce mémoire

À mes chers parents ma mère et mon père

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs
encouragements.*

À mes frères et ma sœur.

À mes amie et camarades.

À mes chères Nardjessa et Soumia

*Sans oublier mes professeures que ce soit du
primaire, du moyen, du secondaire ou de
l'enseignement supérieur.*

AMINA

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction.....1

PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les *Acinetobacter*.....4

1/ Historique4

2/ Identification et classification4

3/ Morphologie, métabolisme et habitat.....5

4/ Virulence et pouvoir pathogène *d'Acinetobacter spp*5

5/ Les Infections nosocomiales6

5-1 Infections nosocomiales et facteurs de risque6

5-2 Les Bactériémies7

Chapitre2 : Les antibiotiques et la résistance8

1/ Les antibiotique8

2/ Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....8

2-1 Sensibilité aux β -lactamines et mécanismes de résistance chez *A.baumannii*.....8

2-1-1 phénotype sauvage *d'A.baumannii*8

2-1-2 Résistances acquises aux β -lactamines chez *A. baumannii*.....9

➤ La résistance acquise aux pénicillines9

➤ La résistance aux céphalosporines de 3ème génération10

2-1-3 Résistances acquises aux carbapénèmes chez *A. baumannii*10

a) Mécanismes enzymatiques10

➤ Carbapénèmases de classe B10

➤ Carbapénèmases de classe D11

b) Mécanismes non enzymatiques11

3/ Résistance aux aminosides chez *Acinetobacter spp*11

4/ Résistance aux quinolones12

5/ Résistance aux autres antibiotiques12

6/ Définition des multirésistances *A.baumannii*-MDR, *A.baumannii*-XDR et *A.baumannii*-PDR13

7/ Les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques	14
7-1 La résistance chromosomique	14
7-2 La résistance plasmidique	14
7-2-1 Les séquences d'insertion	14
7-2-2 Les transposons	15
7-2-3 Les intégrons	15
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	
I. Matériel	17
1/ Type d'étude et durée	17
2/ Lieu de l'étude	17
3/ Population d'étude	17
4/ Matériel biologique	17
4/ Critères d'inclusion	17
5/ critères de non inclusion	17
II. Méthodes	18
1/ Type des prélèvements	18
1-1 Prélèvements des hémocultures	18
1-2 Examen cyto-bactériologique des urines (ECBU)	18
1-3 Prélèvement des pus	18
2/ Isolement des <i>Acinetobacter</i>	18
3/ Identification des <i>Acinetobacter</i>	19
3-1 Examen macroscopique	19
3-2 Examen microscopique	19
4/ La recherche des enzymes	20
4-1 Le Test de la catalase	20
4-2 Test d'oxydase	21
4-3 Le test ONPG: recherche de la β –galactosidase	21
5/ Identification biochimique	22
5-1 Le milieu mannitol mobilité	22
5-2 Le milieu citrate de Simmons	22
6/ Antibiogramme	23

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

1/ présentation des résultats	26
1-1 Isolement et identification des <i>Acinetobacter</i>	26
1-2 Répartition des souches d'<i>A.baumannii</i>	29
a) Selon le sexe	29
b) selon la nature des prélèvements	30
c) selon les services	31
1-3 Taux de résistance de la souche d'<i>Acinetobacter baumannii</i> isolée	31
3/ discussion des résultats	33
Conclusion	34
Références bibliographiques	36
Annexes	44

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification d' <i>Acinetobacter</i>	5
Tableau 2 : Antibiotiques testés pour les souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	24
Tableau 3 : résultat de la lecture du test d'oxydase.....	27
Tableau 4 : résultat de la lecture du test de la catalase.....	28
Tableau 5 : résultat de la lecture du test d'ONPG.....	28
Tableau 6 : résultats de la lecture du milieu mannitol mobilité.....	29
Tableau 7: résultats de la lecture du milieu citrat de Simmons.....	29
Tableau 8 : Répartition des souches d' <i>A.baumannii</i> selon la nature des prélèvements....	30
Tableau 9: Répartition des souches d' <i>Acinetobacter</i> par service.....	31
Tableau 10: la résistance de la souche d' <i>A.baumannii</i> aux antibiotiques testés.....	32

Liste des figures

Figure 1: Aspect de colonies d' <i>Acinetobacter</i> sur le milieu Hektoén.....	26
Figure 2: Observation microscopique après coloration de Gram.....	27
Figure 3: Répartition des souches d' <i>A.baumannii</i> selon le sexe.....	30

LISTE DES ABBREVIATIONS

A.baumannii: *Acinetobacter baumannii*

ADC: *Acinetobacter*-Derived Cephalosporinase

ADP : Adénosine Di-Phosphate

AmpC : Céphalosporinase

ARN: Acide Ribonucléique

ATB : Antibiotique

BGNnF : Bacilles à Gram Négatif non Fermentants

bla-AmpC: gène codant la β -lactamase de type AmpC.

bla-CarO: gène codant pour la porine CarO.

bla-OXA-23: gène codant une β -lactamase de type OXA-23.

bla-OXA-51-like : gène codant la β -lactamase de type OXA-51-like.

BLSE : β -Lactamase à Spectre Etendu

BMR: Bactérie Multirésistante

C3G: Céphalosporine de 3ème Génération

C4G : Céphalosporinase 4 Génération

CHDL: Carbapenem-Hydrolyzing class D β -Lactamase

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

EDTA: Acide Ethylène Diamine Tétracétique

gen.sp: espèce génomique

GES: Guyana Extended-Spectrum Bêta-lactamase

IPM: Imipénème

IS: Insertion Sequence (séquence d'insertion)

Kb: kilobase (=1000 pb)

LCR : Liquide Céphalo-Rachidique

M β L: Métallo-B-Lactamase

NaCl : Chlorure de sodium

NDM: New-Delhi Métallo-B-lactamase

ONPG : Orthonitroohényl-3-D-galactopyrannoside

OXA: Oxacillinase

Pb: Paire de bases

PLP: Protéine Liant les Pénicillines

SHV: SulfHydril-Variable

Spp : abréviation de species au pluriel représente l'ensemble des espèces du genre

Tn : Transposon

VIM: Verona IMipenamase

Résumé

Les bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNnF) sont des pathogènes opportunistes responsables essentiellement d'infection nosocomiales. Ces bactéries manifestent vis-à-vis des antibiotiques un pouvoir d'adaptation de plus en plus grand qui aboutit à des problèmes thérapeutiques souvent aigus.

Des souches d'*Acinetobacter baumannii* ont été isolées, entre Mars et Mai 2015, à partir des différents services au niveau du CHU de Constantine. L'étude de la sensibilité *in vitro* de ces germes vis-à-vis de dix antibiotiques différents dont six β -lactamines, un aminoside, un fluoroquinolone, un aminoglycoside et un sulfamide par la méthode des disques selon les normes du CA-SFM, a révélé l'émergence de souches *Acinetobacter baumannii* multirésistantes aux antibiotiques testés.

L'ensemble des travaux et les résultats obtenus de notre partie pratique a permis de confirmer les données théoriques sur la multirésistance des souches d'*Acinetobacter baumannii*.

Mots clés : BGNnF ; *Acinetobacter baumannii*; résistance aux antibiotiques; β -lactamines; multirésistance.

Abstract

The bacilli non-fermenting Gram-negative are opportunistic pathogens responsible for nosocomial infection mainly. These bacteria occur vis-à-vis an antibiotic increasingly great adaptation power often leads to acute therapeutic problems.

Acinetobacter Baumannii strains were isolated, between March and May 2015, from different departments at the University Hospital of Constantine. The study in vitro susceptibility of these germs vis-à-vis 10 molecules of antibiotics including 6 β -lactams, 1 aminoglycosides, 1 fluoroquinolone, 1 aminoside et 1 sulfonamide by the Disk method standards CA- SFM has revealed the emergence of *Acinetobacter baumannii* resistant to multiple antibiotics tested.

All the work and results of our practical part confirmed the theoretical data on multidrug resistance of *Acinetobacter baumannii*.

Key words : *Acinetobacter baumannii*; antibiotics resistance; β -lactams; multidrug resistance.

Introduction

A la fin du XIX^e siècle, les travaux de grands microbiologistes comme Pasteur et Koch ont changé l'approche du traitement des maladies infectieuses, en peu de temps, le développement et l'utilisation d'agents antimicrobiens comme les sulfamides (dans les années 1930) et la pénicilline (vers la fin des années 1940) ont remplacé l'utilisation thérapeutique de composés beaucoup plus toxiques comme le mercure. Par la suite, de nombreux antibiotiques ont été découverts ou synthétisés permettant de traiter des maladies autrefois mortelles (**Merad, 2014**).

Les problèmes liés à l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques, ainsi qu'à leur dissémination, constituent des préoccupations apparues peu après la première utilisation thérapeutique des antibiotiques. Du fait de l'évolution des systèmes de soins, nous avons progressivement assisté à l'apparition des bactéries multirésistantes (BMR). L'espèce *A.baumannii* apparaît comme l'un des pathogènes les plus problématiques. C'est une bactérie opportuniste multirésistante responsable d'un nombre croissant d'infections nosocomiales et souvent mortelles notamment les pneumopathies dans les services de réanimation. Les patients les plus fragiles sont généralement les cibles de ce pathogène (**Decré, 2012**).

L'existence de souches résistantes à tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique humaine place *A. baumannii* parmi les organismes qui menacent l'arsenal thérapeutique actuel. La vitesse avec laquelle les gènes de résistance sont apparus dans les souches cliniques s'est avérée fulgurante d'un point de vue évolutif. L'apparition fréquente, en moins de 50 ans, d'une variété très grande de gènes de résistance suggèrerait alors leur acquisition via un réservoir de gènes préexistants (**Recchia et al., 1997**).

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont marquées par une évolution impressionnante de la résistance aux antibiotiques en termes de rapidité et de diversité des mécanismes et de matériels génétiques mis en jeu. Les carbapénèmes ont été longtemps considérées comme le traitement de choix des infections à *Acinetobacter*, et aujourd'hui l'utilité clinique de cette classe est menacé par l'émergence de résistance favorisée par son utilisation de plus en plus importante (**Delbos, 2012**).

Cependant elle était alors extrêmement limitée géographiquement, essentiellement au Japon et due à un type particulier de carbapénémase (enzymes ayant une forte activité d'hydrolyse des carbapénèmes) : une métallo- β -lactamase (M β L) de type IMP (**Walsh et al., 2005**). Puis, progressivement, l'impact clinique et la diversité des carbapénémases se sont accrus considérablement pour devenir significatifs au milieu des années 2000. Elles

constituent désormais une préoccupation majeure de santé publique (**Nordmann, 2010**). L'explosion de ces résistances et l'émergence de bactéries multirésistantes constituent un problème qui touche le milieu hospitalier au niveau mondial.

Notre étude porte sur la caractérisation et l'identification des bactéries nosocomiales de type *acinetobacter*, la mise en évidence des caractères sensibilité et résistance aux antibiotiques des souches trouvés et une analyse bibliographique basée sur la génétique de cette espèce.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les Acinetobacter

1/ Historique

L'histoire du genre *Acinetobacter* a débuté en 1911 avec la découverte par le microbiologiste Néerlandais Beijerinck d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* à partir de prélèvement de sol (**Beijerinck, 1911**). En 1948, Schraub et Hauber redécouvrent cette bactérie et ils proposent le nom de *Bacterium unitratum* qui sera ensuite changé en *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica* puis en *Moraxella glucidolytica*.

En 1953, Brissou transfère cette espèce dans le genre *Achromobacter* avec la nomenclature *Achromobacter anitratum*.

En 1954, Brissou et Prévot proposent le genre *Acinetobacter* pour des *achromobactéries* de la tribu des *Achromobactereae* immobiles, parfois capsulées, aérobies ou aéro-anaérobies, cultivant facilement sur les milieux ordinaires et donnant fréquemment des formes courtes et coccoïdes.

En 1961, dans son traité de systématique bactérienne Prévot décrit 18 espèces.

En 1968, une étude de taxonomie numérique réalisée par Baumann et al, montre que les souches oxydase négative constituent un unique genre et ces auteurs restreignent le genre *Acinetobacter* aux seules souches oxydase négative (**Euzebu, 2003**).

2/ Identification et position taxonomique

Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la famille des *Moraxellaceae* au sein de l'ordre *Pseudomonadales* et qui regroupe les genres *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Psychrobacter* (**tableau 1**) (**Rossau et al., 1991**).

Une avancée majeure dans l'histoire du genre *Acinetobacter* a été réalisée en 1986 grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimont qui est parvenus à distinguer 12 espèces génomiques, certaines étant clairement dénommées comme *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii* et *Acinetobacter lwoffii* (**Dortet, 2006**).

Tableau 1: Classification d'*Acinetobacter*

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

3/ Morphologie, métabolisme et habitat

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des gamma-protéobactéries, bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, aérobies strictes, oxydase négative, catalase positive, immobiles et non-fermentants (**Jans et al., 2004**).

Elles ne produisent pas de spores et apparaissent au microscope sous la forme de courts bacilles ou de cocci (en phase stationnaire). Leur contenu ADN en G+C est compris entre 39 et 47% (**Peleg et al., 2008**).

Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont souvent considérées comme des microorganismes ubiquitaires et peuvent être isolées à partir du sol et des eaux (**Zahoun et al., 2010**).

Dans une enquête épidémiologique réalisée pour étudier la colonisation de la peau humaine et des muqueuses, jusqu'à 43% d'individus non hospitalisés ont été trouvés colonisés par *Acinetobacter spp.* avec *A. lwoffii* (58%), *A. johnsonii* (20%), *A. junii* (10%) et *Acinetobacter* espèce génomique 3 (6%). Chez les patients hospitalisés, le taux de portage cutané de ces espèces atteint 75% (**Seifert et al., 1997**).

A.baumannii, l'espèce responsable d'infections nosocomiales au sein du genre *Acinetobacter*, n'a été isolée que très rarement sur la peau avec 0.5% et 3% (**Berlau et al., 1999a**) et dans les selles humaines avec 0,8% (**Dijkshoorn et al., 2005**). Elles font aussi partie de la flore cutanée de l'homme, de la salive, ainsi que du tractus respiratoire (**Fournier et al., 2006**).

4/ Virulence et pouvoir pathogène d'*Acinetobacter spp*

Bien qu'un certain nombre des membres du genre *Acinetobacter*, tels que *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. radioresistens* et *A. parvussp. nov.* ait été isolé à partir de spécimens cliniques (**Nemec et al., 2003**), seul *Acinetobacter baumannii* est un agent pathogène (**Joly-Guillou, 2005**).

Les souches d'*A.baumannii* sont, de plus, fréquemment retrouvées dans les hôpitaux essentiellement dans les services de soins intensifs, certaines caractéristiques peuvent accroître la virulence des souches impliquées dans les infections:

- ❖ L'hydrophobicité de surface confère aux souches d'*Acinetobacter* des propriétés d'adhérence, les protégeant ainsi de la phagocytose (**Braun, 2008**).
- ❖ La présence d'une capsule de polysaccharide rendent les souches plus virulentes que les autres comparées par les travaux de Joly-Guillou *et al* (1997), M.Kempf *et al* (2012) et celui de A de Breij *et al* (2012) dans un modèle de pneumopathie expérimentale (**Kempf *et al.*, 2012 ; De Breij *et al.*, 2012**).

5/ Les Infections nosocomiales

5-1 Infections nosocomiales et facteurs de risque

Les infections nosocomiales sont des infections contractées dans un établissement de soins. Une infection est considérée comme telle lorsqu'elle était absente au moment de l'admission du patient. Lorsque l'état infectieux du patient à l'admission est inconnu, l'infection est généralement considérée comme nosocomiale si elle apparaît après un délai de 48 heures d'hospitalisation.

(www.crioac.org/sites/.../infection_nosocomiales_le_dossier_201.pdf).

Dès les années 1980, *A.baumannii* a été reconnu comme un important agent bactérien responsable d'infections nosocomiales. L'émergence d'infections à *A.baumannii* en milieu hospitalier est corrélée avec l'introduction de nouveaux antibiotiques à large spectre ainsi qu'au développement des techniques invasives d'exploration et de réanimation (**Boukhalfa, 2014**).

La véritable prévalence des *Acinetobacter* en milieu hospitalier est difficile à préciser en raison de la frontière mal définie entre colonisation et infection. *A.baumannii* représente 2 à 10 % des bacilles à Gram négatif, isolés en unités de soins intensifs, en Europe et aux Etats Unis (**Richet et Fournier, 2006**). Elle est responsable de 9 à 10 % des infections nosocomiales en réanimation et représente 90 % des isolats d'*Acinetobacter* en milieu hospitalier (**Bouvet Philippe et Joly Guillou, 2007 ; Naas *et al.*, 2008**).

Une enquête de surveillance des épidémies nosocomiales, réalisée dans 289 hôpitaux américains durant une période de deux années (2008-2009), a démontré qu'*Acinetobacter* spp. était identifié comme agent de 40 épidémies (13.7 %) (**Rhinehart *et al.*, 2012**).

Les principaux facteurs de risque liés à une infection/colonisation à *A.baumannii* sont :

- Facteurs liés à un environnement hospitalier contaminé par le micro-organisme.
- Facteurs liés au malade : une hospitalisation en service de soins intensifs, une intervention chirurgicale lourde, une pathologie sous-jacente grave (cancer, brûlures, immunodépression, traumatisme), un âge avancé plus de 50 ans, prématurité, une maladie pulmonaire chronique, des procédures invasives, la ventilation mécanique, une durée d'hospitalisation prolongée.
- Le rôle de la pression de sélection des antibiotiques (céphalosporines de troisième génération, fluoroquinolones, ou carbapénèmes) (**Bergogne-Bérézin, 2008 ; Naas et al., 2008**).

5-2 Les Bactériémies

La mortalité globale des bactériémies à *A.baumannii* était de 34 % à 43.4 % en réanimation et de 16.3 % en dehors de la réanimation et occupe la troisième position après celle de *Candida.spp* et de *Pseudomonas aeruginosa* (**Wisplinghoff et al., 2004**). Selon le programme de surveillance des antibiotiques « SENTRY » (1997-1999), la prévalence d'*Acinetobacter spp.* dans les bactériémies nosocomiales était de 0.7 % au Canada, de 1.4 % aux Etats Unis et de 4.6 % en Amérique latine (**Gales et al., 2001**).

A.baumannii ne se limite pas aux unités de réanimation mais diffuse dans tous les services de l'hôpital et pourrait devenir endémique dans les hôpitaux (**Paul et al., 2005**).

Les infections à *A.baumannii* peuvent survenir dans un contexte de conflits tels que lors des guerres d'Afghanistan et d'Irak. Les infections à *A.baumannii* de lésions traumatiques de la peau et des tissus mous ont été les plus fréquemment rapportées et 102 cas de bactériémies à *A.baumannii* entre janvier 2002 et août 2004 ont été décrits (**Eveillard et Joly-Guillou, 2011**).

Chapitre2 : Les antibiotiques et la résistance bactérienne

1/ Les antibiotiques

Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique (**Lavigne, 2007**), capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Perronne, 1999**).

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que leurs origines, leurs structures et leurs mécanismes d'action.

L'action antibactérienne s'effectue selon quatre principaux mécanismes :

- Une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi,
- Un blocage de la synthèse des protéines,
- Un blocage de la synthèse des acides nucléiques,
- Une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (**Fomba, 2006**).

2/ Mécanismes de résistance aux antibiotiques

2-1 Sensibilité aux β -lactamines et mécanismes de résistance chez *A. baumannii*

Du fait de son implication clinique largement dominante par rapport aux autres espèces d'*Acinetobacter*, la résistance aux antibiotiques d'*A.baumannii* est la plus étudiée, même si de plus en plus d'intérêt est porté sur la résistance aux antibiotiques des autres *Acinetobacter* spp. (**Espinal et al., 2011**).

2-1-1 phénotype sauvage d'*A.baumannii*

Les souches d'*A.baumannii* sont naturellement résistantes à la pénicilline G, à l'amoxicilline et aux céphalosporines de première et deuxième génération (**Figueiredo, 2011**).

Les souches sauvages d'*A.baumannii* produisent une β -lactamase de type céphalosporinase (ou AmpC), désignée également « *Acinetobacter-derived cephalosporinases* » (ADCs). La présence de ces enzymes ADCs représente le mécanisme de résistance aux β -lactamines le plus fréquent chez *A. baumannii*. Cette enzyme est capable d'hydrolyser les aminopénicillines et les céphalosporines de première et de deuxième génération (**Bou et Martinez-Beltran, 2000**).

Contrairement aux enzymes AmpC identifiées chez les autres organismes à Gram négatif, l'expression du gène bla-ampC n'est pas inductible. Ceci est dû au fait qu'aucun gène régulateur n'est présent en amont du gène bla-ampC, contrairement à ce que l'on observe par exemple pour *P. aeruginosa* (**Figueiredo, 2011**).

A.baumannii possède aussi naturellement sur son chromosome un gène codant pour une oxacillinase (ou β -lactamase de classe D) dont le représentant principal est OXA-51, avec de très nombreux variants décrits comme OXA-69, OXA-66 par exemple. Le rôle des gènes de type bla-OXA-51 dans la résistance naturelle d'*A.baumannii* semble très faible (**Héritier et al., 2005a**). Certains auteurs ont évoqué la possibilité d'une surexpression de l'oxacillinase naturelle d'*A.baumannii* (OXA-51 et ses variantes) par insertion d'IS-*Aba1* en amont du gène codant pour cette β -lactamase (**Turton, 2006**). Cependant, la réelle contribution de la structure IS-*Aba1*-gène de type bla-OXA-51 à la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* fait débat puisque cette structure a été identifiée dans des souches *A.baumannii* résistantes et sensibles aux Carbapénèmes (**Touati, 2013**).

La résistance naturelle d'*A.baumannii* à certaines β -lactamines résulte de l'association de plusieurs mécanismes incluant une taille réduite des protéines de membrane externe et une production limitée de porine. L'utilisation non contrôlée d'antibiotiques à large spectre a contribué à la sélection et à l'émergence de souches multi-résistantes, voire pan-résistantes. Cette résistance aux antibiotiques pose de nombreuses difficultés thérapeutiques (**Figueiredo, 2011**).

2-1-2 Résistances acquises aux β -lactamines chez *A. baumannii*

➤ La résistance acquise aux pénicillines

Dans les années 80, différentes pénicillinases plasmidiques ont été caractérisées chez *A.baumannii*.

Il s'agit principalement de l'enzyme TEM-1, les autres types moins fréquents étant TEM-2, CARB-5 et SCO-1. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, pipéracilline) et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (**Decré, 2012**). La SCO-1 hydrolyse faiblement la céfalotine, la ceftazidime et le céfépime (**Nass, 2008**).

La localisation plasmidique du gène codant cette enzyme a permis sa dissémination dans d'autres espèces d'*Acinetobacter* et dans des souches d'*E. coli* (**Papagiannitsis et al., 2007**).

➤ La résistance aux céphalosporines de 3ème génération

Peut être liée à plusieurs mécanismes :

- L'insertion de la séquence d'insertion IS-*AbaI* immédiatement en amont du codon d'initiation du gène *bla-ampC* a été démontrée comme étant responsable de l'apport de séquences promotrices entraînant une surexpression de ce gène. Ceci représente le mécanisme de résistance le plus fréquent chez *A.baumannii* (**Héritier et al., 2006**).
- Plus rarement : acquisition d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE).

Les plus classiques sont PER-1 (Pseudomonas Extended Resistance) (**Vahaboglu et al., 1997**) et, VEB-1 (Vietnam Extended-spectrum Bêta-lactamase) (**Poirel et al., 2003**), mais d'autres BLSE plus rares ont été décrites comme SHV-12 (SulfHydril-Variable) (**Huang et al., 2004**), CTX-M-2 (CéfoTaxiMase-Munich) (**Nagano et al., 2004**), SHV-5 (**Naas et al., 2007**), TEM-92 (**Endimiani et al., 2007**).

Les BLSE de type GES ont aussi été décrites chez *A.baumannii*, certains variants comme GES-11 et surtout GES-14 pouvant conférer une résistance à toutes les β -lactamines, incluant les carbapénèmes (**Moubareck et al., 2009 ; Bonnin et al., 2011**).

2-1-3 Résistances acquises aux carbapénèmes chez *A. baumannii*

Elle est problématique chez *A. baumannii* puisque ces molécules sont considérées comme le traitement de choix des infections impliquant ce germe. Lorsque ce germe est résistant aux carbapénèmes, les possibilités thérapeutiques deviennent très limitées. Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* (**Figueiredo, 2011**).

a) Mécanismes enzymatiques

➤ Carbapénémases de classe B

Les β -lactamases de classe B « Appelée métallo- β -lactamases (MBLs) » ont besoin d'un atome de zinc pour détruire les β -lactamines, elles sont inhibées par l'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) (**Cornaglia, 2011**).

Les déterminants MBLs les plus décrits chez *A. baumannii* sont les dérivés de type IMP, VIM, SIM et NDM. Un des derniers déterminants décrits, NDM-1 (New-Delhi Métallo- β -Lactamase), a notamment largement été médiatisé et son importante capacité de dissémination cause un réel problème de santé publique (**Rolain, 2010**).

➤ Carbapénèmases de classe D

Les oxacillinases en général hydrolysent l'oxacilline, la méthiciline, cloxacilline et la benzylopénicilline, et leur activité est inhibée par NaCl (**Heritier, 2005**). De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique. La plupart des β -lactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C3G/C4G mais l'évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers un élargissement du spectre a du avoir lieu comme pour les dérives de TEM/SHV (**Touati, 2013**).

Des oxacillinases aux propriétés de carbapénèmases sont identifiées chez *A. baumannii*, ces oxacillinases sont de trois grands types : OXA-23, OXA-24/OXA-40 et OXA-58. Elles confèrent des degrés variables d'hydrolyse des Carbapénèmes dépendant de leur niveau d'expression (**Heritier, 2005**).

Les oxacillinases (CHDLs) telles que OXA-23, initialement dénommée ARI-1 « *Acinetobacter* résistant à l'imipenème-1 » a été identifiée pour la première fois en Ecosse (**Paton, 1993**). Le gène OXA-23, chez *A. baumannii*, a été décrit sur plusieurs types de transposons (Tn 2006, Tn2007 et Tn2008) localisés au sein du chromosome ou sur différents plasmides, démontrant la grande diversité des voies de dissémination de l'enzyme (**Mugnier, 2010**).

b) Mécanismes non enzymatiques

Un système d'efflux AdeABC a été identifié chez *A. baumannii*. Il est régulé par un système à deux composants, et est responsable de la résistance aux aminosides, tétracyclines, érythromycines, chloramphénicol, triméthoprime et aux fluoroquinolones (**Cattoir, 2004**).

La modification de la cible des β -lactamines par mutation ou l'utilisation par la bactérie de transpeptidases alternatives pour la synthèse du peptidoglycane peuvent générer une résistance bactérienne (**Poirel et Nordmann, 2006**).

En plus des β -lactamases, la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* peut aussi résulter de modifications de protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou de porine. Plusieurs porines, incluant la 33-kDa CarO protéine, constituant un canal protéique permettant l'entrée des carbapénèmes peuvent être impliquées dans la résistance aux carbapénèmes (**Poirel et Nordmann, 2006**).

3/ Résistance aux aminosides chez *Acinetobacter* spp

La résistance aux aminosides est essentiellement due à l'acquisition de plasmides, d'intégrons ou de transposons responsables de la production d'enzymes modificatrices. Les

trois types d'enzymes inactivant les aminosides ont été décrits chez *A.baumannii* : aminoside acétyltransférase AAC, aminoside nucléotidyl-transférase ANT, aminoside phosphotransférase APH (Nemec et al., 2004).

Les gènes codant pour des enzymes inactivant les aminosides sont sous forme de gènes cassettes au sein des intégrons chez *Acinetobacter* spp (peleg et al., 2008).

Plus récemment, des méthylations de l'ARNr 16S par des méthylases, les ARNr 16S méthylases (ArmA et RmtA) par l'acquisition de gènes codant des méthylases de l'ARN ribosomal 16S Ces enzymes méthylent l'ARN ribosomal 16S et rendent inactifs tous les aminosides à l'exception de la streptomycine, la spectinomycine et la néomycine, ont été décrites chez des souches d'*A.baumannii* isolées à travers le monde. En plus la résistance aux aminosides est également associée à des mécanismes d'efflux actifs (Decré, 2012).

4/ Résistance aux quinolones

Le principal mécanisme de résistance est dû à des mutations au niveau des gènes *gyrA* et *parC*, gènes à l'origine de l'ADN gyrase et du topoisomérase IV, enzymes qui permettent le maintien de l'intégrité de l'hélice pendant le processus de réplication de l'ADN. Ces mutations induisent des cassures dans l'ADN conduisant à la mort bactérienne. Ainsi possède des systèmes d'efflux qui jouent un rôle important dans la résistance aux fluoroquinolones (Cattoir, 2012).

5/ Résistance aux autres antibiotiques

Le triméthoprime est un substrat pour les systèmes d'efflux de type RND (AdeABC et AdeFGH et AbeM). *A.baumannii* est naturellement résistant à bas niveau au triméthoprime (CMI de 16 à 32 mg/l. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice). La résistance à haut niveau (> 100 mg/l) est due à un gène (*dhfrI*) porté par un plasmide inséré au sein d'un transposon ou d'un intégron, il est associé à des gènes de résistance impliquant d'autres antibiotiques: ampicilline, chloramphénicol, kanamycine, streptomycine et sulfaméthoxazole (Joly-Guillou, 2006 ; Naas, 2008). *A.baumannii* peut être résistant au chloramphénicol par acquisition du gène d'une acétyltransférase (*catI*) porté par un transposon (Naas, 2008). Ce mécanisme peut être combiné à l'action des systèmes d'efflux de type RND (AdeABC, AdeIJK), MFS (*CmlA*) et BIMP (AbeS) (Gordon, 2010 ; Decré, 2012).

La résistance aux tétracyclines a été bien documentée chez *A.baumannii* et est liée à la présence de pompes à efflux de type Tet(A) et Tet(B) (Naas, 2008). Tet(B) détermine

l'efflux des tétracyclines et la minocycline, alors que Tet(A) détermine l'efflux des tétracyclines uniquement (**Perez, 2007**).

La rifampicine est active sur environ 50 % des souches d'*Acinetobacter* (CMI de 2 à 4 mg/l), la résistance acquise est due à une ADP-ribosyl transférase dont la production est liée au gène *arr-2* situé sur un intégron de classe 1 (**Joly-Guillou, 2006**).

La résistance aux polymyxines est rare, cependant un mécanisme de résistance impliquant un système de régulation à 2 composants PmrAB a été décrit récemment (**Decré, 2012**).

6/ Définition des multirésistances *A.baumannii*-MDR, *A.baumannii*-XDR et *A.baumannii*-PDR

Différentes définitions des termes MDR (multidrug-resistant) et PDR (Pandrug-resistant) ont été utilisées dans la littérature pour désigner des souches d'*A.baumannii* résistantes aux antibiotiques, cette diversité était une source de confusion pour les chercheurs et les cliniciens (**Falagas et al., 2006**).

Peleg et al, ont suggéré de définir une souche *A.baumannii*-MDR si elle présente au moins deux résistances parmi cinq types de molécules : céphalosporines à large spectre (ceftazidime ou céfépime), imipénème ou méropénème, β -lactamine plus inhibiteur (ampicilline-sulbactam ou ticarcilline-acide clavulanique), fluoroquinolones (ciprofloxacine ou levofloxacine) et aminosides (gentamicine, tobramycine, ou amikacine) (**Peleg et al., 2008**).

Selon Falagas et al, un *A.baumannii* se définit comme PDR s'il résiste aux pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactams, quinolones, aminoglycosides, polymyxines, sulbactam, à une cycline (minocycline ou doxycycline) et tigecycline (**Falagas et al., 2006**).

Récemment, un groupe d'experts internationaux se sont réunis à travers une initiative du Centre Européen pour le contrôle et la prévention des maladies (ECDC) et le CDC (Centers for Disease Control and Prevention), afin de créer une standardisation internationale de la terminologie des profils de résistance acquis (multidrug-resistant MDR, extensively drug-resistant XDR et pandrug-resistant PDR), chez les bactéries responsables d'infections nosocomiales, entre autre chez *Acinetobacter* spp. Les critères d'interprétation recommandés sont celles de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) et/ou de la FDA (US Food and Drug Administration).

Une souche MDR est définie par une résistance à au moins un agent parmi trois catégories d'antimicrobiens.

Une souche XDR est définie par une résistance à tous les agents, à l'exception de deux ou moins parmi les catégories d'antibiotiques.

Une souche PDR est définie par une résistance à tous les agents antimicrobiens dans toutes les catégories (**Magiorakos et al., 2012**).

(http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/ARHAI/Pages/public_consultation_clinical_microbiology_infection_article.aspx).

7/ Les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques

7-1 La résistance chromosomique

La résistance chromosomique compte pour au moins 5% de la résistance rencontrée en clinique. Elle est souvent stable et tire son origine soit d'un gène de résistance (ex: *ampC*) ou de mutations ponctuelles dans un gène bactérien qui altèrent la cible d'un antibiotique (**Murray et al., 2005**). Cette résistance, bien que de support chromosomique, n'est pas figée:

- Des enzymes *AmpC* présentant des modifications structurales, par mutations ou délétions de nucléotides, ont été décrites (**Bernaude et al., 2004**).
- Ces enzymes peuvent être hyperproduites, par modification de leur régulation (**Bagge et al., 2002**).
- Après mobilité, les gènes codant pour ces enzymes ont également été observés sur des plasmides : *AmpC* plasmidique (**Philippon et al., 2002**).

7-2 La résistance extra-chromosomique

7-2-1 Les séquences d'insertion

Les séquences d'insertion (IS) sont la forme la plus simple d'un élément transposable, généralement de taille inférieure à 2,5kb, capables de se déplacer de façon autonome dans les génomes microbiens et ne codent que pour leur propre transposition (**Mugnier et al., 2009**). Ces structures sont très répandues dans le genre *Acinetobacter* (**Segal et al., 2005**). Elles ne constituent pas elles-mêmes un support de la résistance aux antibiotiques, mais sont susceptibles d'interférer dans la régulation de certains mécanismes qui y sont impliqués.

IS-*Aba1* est une séquence d'insertion qui apporte une séquence promotrice importante et donc une surexpression de certains gènes intrinsèques (*bla-ADC* et *bla-OXA-51-like*) ou acquis (*bla-OXA-23-like*) d'*A.baumannii* (**Héritier et al., 2006 ; Corvec et al., 2007**).

IS-*Aba1* pourrait également être responsable de la mobilité du gène OXA-23 en s'insérant sur les deux côtés du gène au sein du transposon composite Tn2006, ou en une seule copie située en amont ou en aval du gène au sein du transposon Tn2008 (**Adams-Haduch et al., 2008 ; Corvec et al., 2007**). IS-*Aba2*, IS-*Aba3*, IS18, et IS-*Aba825* pourraient également fournir de forts promoteurs pour *bla*-OXA-58-like (**Ravasi et al., 2011**) alors qu'une seule copie d'IS-*Aba4* associée au gène *bla*-OXA-23 au sein du transposon Tn2007 peut également être responsable de la surexpression et pourrait permettre la mobilisation du gène (**Corvec et al., 2007**).

Une analyse de séquence de l'environnement génétique de *bla*-NDM-1 chez une souche d'*A. baumannii* isolée en Allemagne a révélé la localisation chromosomique de *bla*-NDM-1 de 10.5 kb flanquée entre deux copies d'IS-*Aba125* (**Pfeifer et al., 2011**).

De plus, IS-*Aba825* et IS-*Aba125* ont été trouvés responsables de la réduction de la sensibilité aux carbapénèmes par inactivation du gène *carO*, gène codant pour un canal protéique de la membrane externe associée à l'efflux des carbapénèmes chez *A.baumannii* (**Mussi et al., 2005**).

7-2-2 Les transposons

Ils représentent un autre support génétique de la résistance. C'est un élément génétique mobile, formé d'une séquence d'ADN sans existence autonome stable, mais cette séquence est capable de promouvoir sa propre translocation grâce à la présence d'un gène codant pour une transposase. L'intégration d'un transposon est réalisée soit sur un plasmide, soit sur le chromosome, le plus souvent dans une région riche en AT. Les plus célèbres transposons sont les transposons composés, Tn5, Tn9 et Tn10, ils ont acquis leur notoriété pour les gènes de résistance aux antibiotiques qu'ils portent et ont été retrouvés sur les plasmides de plusieurs souches cliniques (**Merad, 2014**).

7-2-3 Les intégrons

Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Ces dernières sont des éléments mobiles capables de s'intégrer ou de s'exciser par un mécanisme de recombinaison, spécifique de site, lié à l'intégrase. A la différence des plasmides, les intégrons sont incapables d'autoréplication. Ils sont obligatoirement portés sur un réplicon de nature chromosomique ou plasmidique. De même, ils diffèrent des transposons par l'absence de gène codant pour une recombinase au sein des cassettes, également dépourvus de séquences inversées répétées à leurs extrémités (**Toussaint et al., 2002**).

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

1/ Type d'étude et durée

Il s'agit d'une étude rétrospective qui s'est portée sur la période allant du 20 mars jusqu'au 30 mai 2015.

Ce travail a pour objectifs d'étudier le pouvoir pathogène et la sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter.spp.*

2/ Lieu de l'étude

Le travail a été effectué au niveau de service de bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Ben Badis de Constantine.

3/ Population d'étude

La population d'étude comporte 105 malades (67 hommes et 38 femmes) admis dans les différents services du CHU de Constantine.

4/ Matériel biologique

Anse de platine, bec benzène, boîtes de Petrie, tubes à essai, lame, gélose nutritif, gélose hektoen, milieu Mueller Hinton, disques d'ATB, disque d'oxydase.

5/ Critères d'inclusion

- ✓ Malades infectés et /ou colonisés par une souche d'*Acinetobacter spp.*
- ✓ Le prélèvement a été envoyé vers le laboratoire de bactériologie.
- ✓ Prélèvements pathologiques à visée diagnostique :
 - a) Hémocultures.
 - b) LCR (Liquide Céphalo-Rachidique).
 - c) Urines (ECBU : Examen cytobactériologique des urines).
 - d) Cathéters vasculaires.
 - e) Sondes urinaires.
 - f) Sécrétions broncho-pulmonaires.
 - g) Ecouvillonnages des plaies et des pus superficiels.

6/ Critères de non inclusion

Les souches isolées d'un même malade, au niveau du même site anatomique et dont le profil de sensibilité est identique ont été considérées comme doublons et ont été exclues.

II. Méthodes

1/ Type des prélèvements

1-1 Prélèvements des hémocultures

Le sang est prélevé stérilement. Une bactériémie est confirmée par la mise en évidence de bactérie dans les hémocultures.

Le prélèvement d'hémoculture consiste à recueillir du sang, aseptiquement, au cours d'une même ponction dans deux flacons, l'un aérobie et l'autre anaérobie.

Les prélèvements du sang sont prélevés dans des flacons à hémocultures (flacons Castanèda biphasique, ou flacon contenant un bouillon citraté) dans des conditions rigoureuses d'asepsie et acheminés immédiatement au laboratoire.

1-2 Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

L'objectif majeur est de recueillir l'urine vésicale, en évitant lors de la miction sa contamination par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale. On recueillera de préférence les urines ayant séjourné dans la vessie pendant 2 à 3 heures, au cours de la première miction du matin si possible.

1-3 Prélèvement des pus

Garantir la qualité du prélèvement bactériologique et la sécurité de la personne soignée et des professionnels en charge du prélèvement, de leur transport et de leur analyse dans le cadre des prélèvements de pus, des collections fermées, de biopsie ou pièces opératoires.

Le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes.

2/ Isolement des *Acinetobacter*

Après incubation sur la gélose nutritive ordinaire à 37 C° pendant 24h, les colonies bactériennes apparues sont aseptiquement prélevées à l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie. Celles-ci, sont mises en suspension dans de l'eau distillée stérile.

3/ Identification des *Acinetobacter*

L'identification des bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* est basée sur la succession des tests qui suivent :

3-1 Examen macroscopique

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

Ces caractéristiques macroscopiques de colonies sont les plus impliqués dans la connaissance du genre *Acinetobacter*.

3-2 Examen microscopique

L'examen microscopique après coloration de Gram, permet non seulement d'observer la morphologie des cellules d'*Acinetobacter* et leurs modes de regroupement, mais aussi de différencier ces bactéries à Gram négatif des bactéries à Gram positif. La coloration elle est effectuée en plusieurs étapes :

a) La préparation du frottis mince

A l'aide d'une anse de platine, une goutte de la suspension bactérienne est fixée à la flamme du bec bunsen par des passages successifs. Elle est laissée refroidie avant d'entamer la coloration.

b) La coloration

Il s'agit de la coloration de base en microbiologie. Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer en deux genres (Gram+ et Gram-). Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme.

❖ Protocole

- Etaler une goutte de suspension microbienne sur une lame
- Laisser bien sécher à l'air
- Recouvrir la lame avec du violet de Gentiane ou Crystal violet ; laisser agir 30s
- Par-dessus ajouter le lugol 30s

- Eliminer les colorants et décolorer rapidement à l'alcool 30sec
- Rincer à l'eau pour arrêter la décoloration
- Recouvrir la lame de Fuchsine ou safranine 1 min
- Rincer à l'eau et laisser sécher à l'air (ou à la flamme)
- Observation à l'objectif X 100 avec l'huile à immersion.

c) Principe

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

4/ La recherche des enzymes

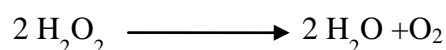
4-1 Le Test de la catalase

a) Technique

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

b) Principe

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂):



Produit toxique **formation des bulles**
pour les bactéries

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

4-2 Test d'oxydase

a) Technique

Le réactif peut se trouver sous deux formes:

- Soit en solution
 - sur une lame de verre, déposer un carré de papier filtre et l'imbiber d'une solution fraîchement préparée de réactif
- soit sous la forme d'un disque pré-imprégné par le réactif

Dans les deux cas

- écraser avec une effilure de pipette Pasteur une colonie de germes à étudier sur ce papier (instrument n'oxydant pas le réactif).

b) Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme: la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine.

Ce réactif est incolore et en présence d'enzyme, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air.

4-3 Le test d'ONPG: la recherche de la β –galactosidase

a) Technique

- réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée.
- ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- incuber 30 min à 37°C.
- lire

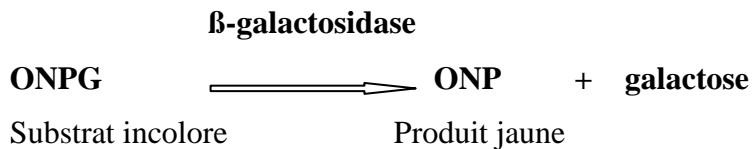
b) Principe

La β -galactosidase est une enzyme inductible : elle n'est synthétisée par la bactérie que lorsque celle-ci est en présence de son substrat.

La recherche de la β -galactosidase doit être effectuée à partir d'une souche lactose⁻ cultivée dans un milieu contenant du lactose (exemple : le milieu Kligler Hajna).

On utilise un substrat synthétique : l'ortho-nitro-phényl-galactoside (**ONPG**) incolore, de structure proche du lactose et capable de pénétrer dans la bactérie sans perméase.

Si la bactérie possède la β -galactosidase, on obtient du galactose et de l'ortho-nitro-phénol (**ONP**) de couleur jaune. La réaction est la suivante :



5/ Identification biochimique

5-1 Le milieu mannitol mobilité

a) Technique d'ensemencement

- Par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur fermée.
- Incuber 24 heures à 37°C.

b) Principe

La présence d'une faible teneur d'agar (gélose semi-molle) Rend possible le déplacement des bactéries mobiles autour de la piqûre centrale.

La lecture de l'utilisation du mannitol est possible grâce à la présence d'un indicateur de pH, le rouge de phénol. L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune).

5-2 Le milieu citrate de Simmons

a) Technique

- Le milieu est présenté sous forme de gélose inclinée.
- La pente est ensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile.
- Il est important de ne pas apporter de substrats carbonés. Ainsi l'ensemencement à partir d'une souche pure fournie en bouillon nutritif ou en eau peptonée est impossible.
- Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux (en particulier élimination du dioxyde de carbone).

- Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.

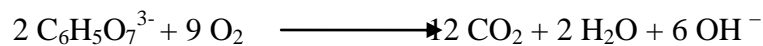
b) Principe

Seules les bactéries possédant un citrate perméase peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone.

La lecture de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone est possible grâce à la présence:

- ✓ D'un indicateur de pH, le bleu de bromothymol.
- ✓ D'un seul composé carboné, le citrate de sodium.

L'oxydation du citrate entraîne la libération de CO₂ volatil et la consommation de H⁺:



La dégradation du citrate se traduit par une alcalinisation du milieu révélée par le virage du bleu de bromothymol à sa teinte basique.

6/ Antibiogramme

6-1 Principe

L'antibiogramme par diffusion permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques. Des disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu de culture standardisé (milieu de Mueller-Hinton) préalablement ensemencé avec une dilution calibrée de la bactérie à testée (**tableau 2**). L'arrêt de la croissance à distance du disque se produit en présence de la concentration minimale inhibitrice de l'antibiotique.

Tableau2 : Antibiotiques testés pour la souche d'*Acinetobacter baumannii*.

Famille d'ATB	N°	Disque d'ATB testés	Abréviations	Charges (µg)
Béta-lactamines	01	Aztréonam	ATM	30
	02	Céfépime	FEP	30
	03	Ceftazidime	CAZ	30
	04	Imipénème	IMP	10
	06	Piperacilline	PIP	100
	07	Ticarcilline	TIC	75
Fluoroquinolones	08	Ciprofloxacine	CIP	5
Sulfamides	09	Triméthoprim / sulfaméthoxazole	SXT	1.25 /23.75
Aminosides	10	Topramycine	TOB	10
Aminoglycosides	11	Gentamicine	GEN	10

TROISIEME PARTIE

RESULTATS ET DISCUSSION

1/ Présentation des résultats

1-1 Isolement et identification des *Acinetobacter*

La présence des souches appartenant au genre *Acinetobacter* a été suspectée après traitement de divers échantillons cliniques sur la base des examens macroscopique et microscopique réalisés.

Les colonies suspectées ont ainsi été isolées sur gélose nutritive ordinaire puis purifiées sur le milieu Hektoén pour une éventuelle identification.

Après 24 heures d'incubation, les colonies apparaissent lisses, circulaires, convexes avec une couleur bleu-vert (**figure1**).

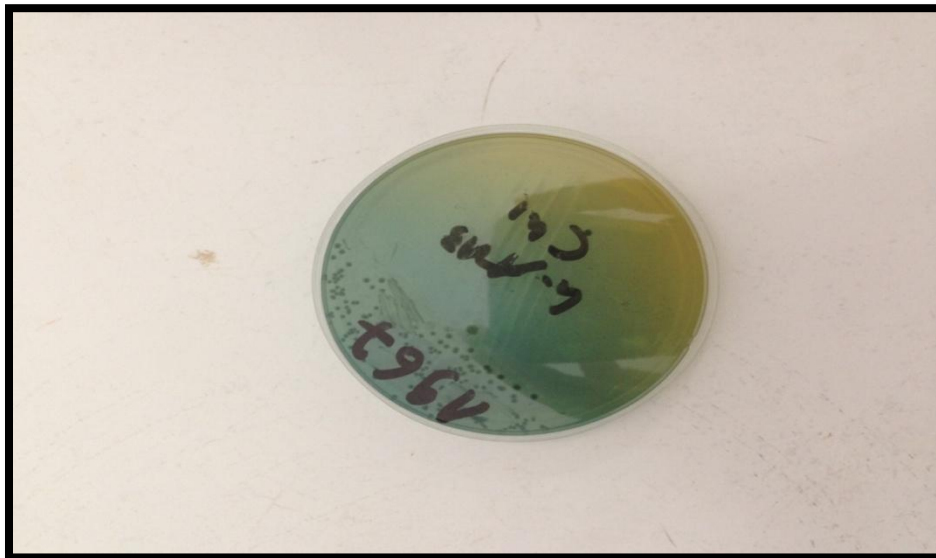


Figure 1: Aspect de colonies d'*Acinetobacter* sur le milieu Hektoén.

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune (18 à 24 heures d'incubation) a révélé, la présence de petits bacilles ou coccobacilles, colorés en roses (à Gram négatif), à extrémités arrondies pouvant être isolés, regroupés par deux ou bien en courtes chainettes (**figure 2**). Ces caractéristiques microscopiques être tout a fait similaires à celles des espèces d'*Acinetobacter*.

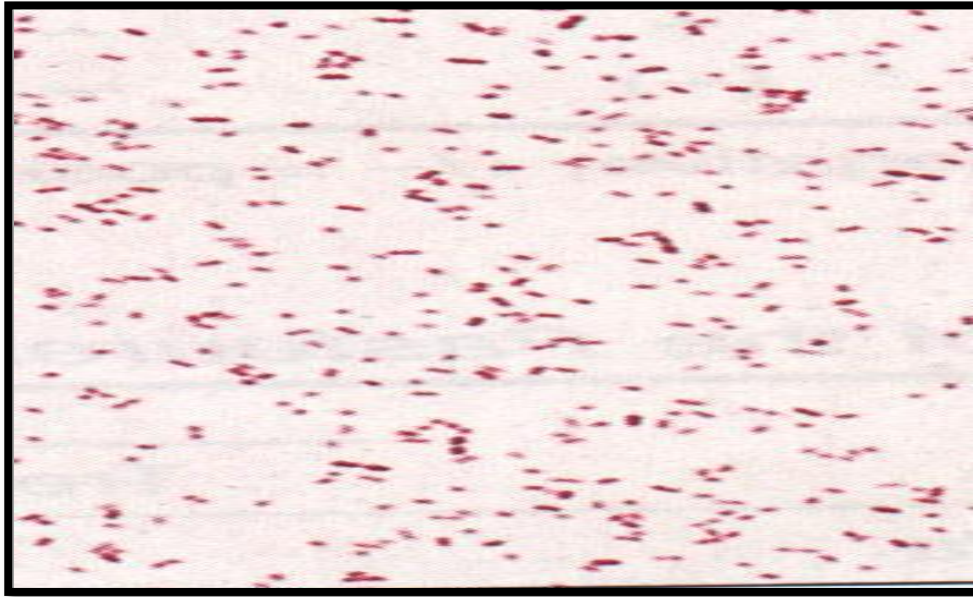


Figure 2: Observation microscopique après coloration de Gram (grossissement X 100)

(www.dmipfmv.ulg.ac.be/bacvet/m/cours3VMB/TP/orientation.doc)

Par ailleurs, les tests enzymatique effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction négative de l'oxydase (**oxydase -**) (**tableau 3**) et une présence de deux enzymes la catalase (**catalase +**) (**tableau 4**) et la β -galactosidase (**tableau 5**) chez les espèces isolées.

Tableau 3 : Résultat de la lecture du test d'oxydase.


Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>La bactérie n'est pas capable d'oxyder le N-diméthyl paraphénylène diamine.</p>	<p>La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase-.</p>

Tableau 4 : Résultat de la lecture du test de la catalase.

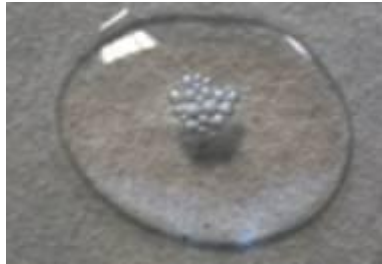

Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>La bactérie catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en H_2O et O_2 (visible par formation de bulles).</p>	<p>La bactérie possède la catalase, elle est dite catalase+.</p>

Tableau 5 : Résultat de la lecture du test d'ONPG.

Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>La bactérie a hydrolysée l'ONPG en ONP (produit coloré jaune).</p>	<p>La bactérie possède la β-galactosidase elle est dite ONPG +.</p>

En outre, l'identification des caractères biochimique à l'aide de la galerie classique, a permis d'identifier les bactéries isolées comme appartenant au genre *Acinetobacter*. nos résultants sont représentés dans les deux tableaux 6 et 7 ci-après.

Tableau 6 : Résultats de la lecture du milieu mannitol mobilité.



Caractère	Observation	Interprétation	Conclusion
Fermentation du mannitol		Absence d'acidification du milieu.	La bactérie ne fermente pas le mannitol elle est dite mannitol -.
Mobilité	Culture uniquement au niveau de la piqûre centrale.	Pas de déplacement des bactéries dans le milieu.	Les bactéries sont probablement immobiles .

Tableau 7: Résultats de la lecture du milieu citrate de Simmons.

Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie utilise le citrate comme seule source de carbone sans alcalinisation du milieu	La bactérie possède une citrate perméase Elle est dite citrate +

1-2 Répartition des souches d'*A.baumannii*

a) Selon le sexe

Nos résultats montre une prédominance des souches isolées chez les patients du sexe masculin avec 63.8% contre 36.19% des souches sont isolées chez les patients du sexe féminin (**figure 3**).

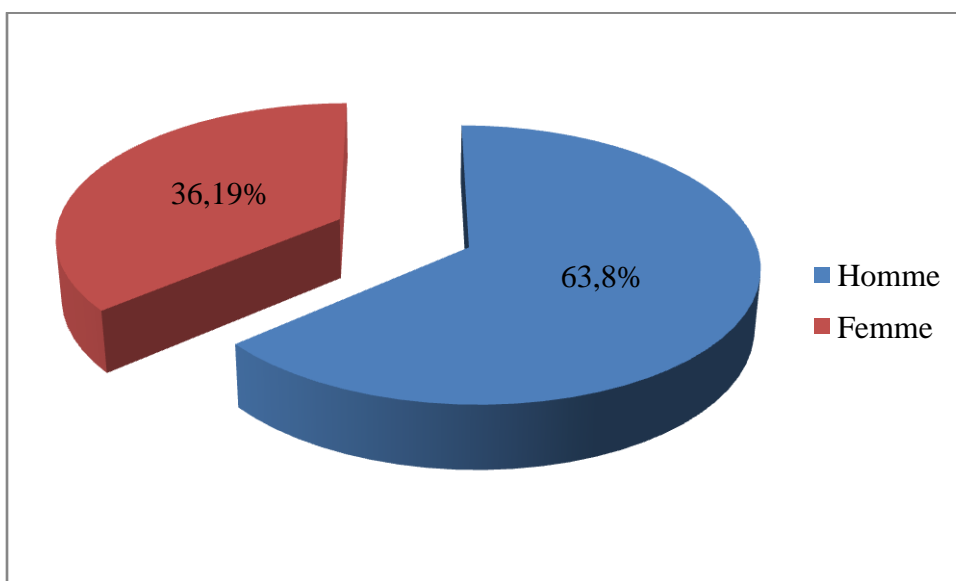


Figure 3 : Répartition des souches d'*A.baumannii* selon le sexe.

b) Selon la nature des prélèvements

Les souches d'*A.baumannii* ont été isolées à partir d'une grande variété des prélèvements cliniques. Nous avons remarqué leur présence dans la majorité des prélèvements principalement les hémocultures avec une fréquence de 48.57% et les prélèvements trachéaux bronchique avec une fréquence de 20.95% suivi des sonde urinaire et des pus avec un taux de 6.66%. Les cathéters, les LCR et les autres prélèvements ont une faible fréquence de (4.76 et 3.80%) (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Répartition des souches d'*A.baumannii* selon la nature des prélèvements.

Type de prélèvements	Le nombre des souches	Pourcentage
Hémoculture	51	48.57%
LCR	4	3.80%
Trachéal	22	20.95%
Sondes urinaires	7	6.66%
Cathéters	5	4.76%
Pus	7	6.66%
Autres prélèvements	9	8.55%
Total	105	100%

c) Selon les services

Le laboratoire de bactériologie reçoit aussi, dans la même période de notre étude, des prélèvements issus d'autres services tels que le centre de brûlure et chirurgie. Le tableau 9 montre que le taux d'isolement des *Acinetobacter*, le plus élevé, est remarqué chez les patients en état sévère dans l'unité de réanimation médicale (38.09%) en deuxième position, le centre de brûlure (35.23%) et en troisième position le service de l'orthopédie (19.04%). Un pourcentage de 14.22% pour les autres services. L'urgence chirurgicale et l'urgence médicale ont une fréquence faible (5.74% et 4.76%).

Tableau 9: Répartition des souches d'*Acinetobacter* par service.

Les services	Le nombre des souches	Le pourcentage
Réanimation médicale	40	38.09%
Centre de brûlure	37	35.23%
Orthopédie	20	19.04%
Urgence chirurgicale	5	4.76%
Urgence médicale	6	5.74%
Autres service	15	14.22%
Total	105	100%

1-3 Taux de résistance de la souche d'*Acinetobacter baumannii* isolée

Les tests d'évaluation de la résistance aux ATB ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'ATB en milieu gélosé MH selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (SFM).

Les profils de résistance déterminés montrent que la souche d'*Acinetobacter baumannii* présente différents comportements vis-à-vis les ATB testés (**tableau 10**).

Tableau 10: la résistance de la souche d'*A.baumannii* aux antibiotiques testés.

Famille d'ATB	Abréviation	phénotype
Béta-lactamines	ATM	R
	FEP	R
	CAZ	R
	IMP	R
	PIP	R
	TIC	R
Fluoroquinolones	CIP	R
Aminoglycosides	GEN	R
Sulfamides	SXT	I
Aminosides	TOB	I

R : résistante, **I** : intermédiaire

La souche *A.baumannii* a montrée une résistance importante aux Béta-lactamines, aux fluoroquinolone et aux aminoglycosides et une résistance intermédiaire aux sulfamides et aux aminosides.

Discussion des résultats

L'analyse globale de la littérature laisse apparaître, que *A. baumannii* est essentiellement rencontrée aux services de réanimation (38.09 %). Cet isolement si fréquent serait en rapport avec des épisodes épidémiques causés par la forte contamination de l'environnement des patients porteurs **(Poirel, 2006)**.

En Algérie, *A. baumannii* représente 39.9% des infections qui surviennent en réanimation selon le réseau de surveillance Algérien **(Rahal, 2012)**.

Sur une période de deux mois on ne peut prétendre à des résultats significatifs. Par ailleurs, l'absence de donnée sur l'écologie bactérienne des services de réanimation constitue un manque non négligeable. D'un autre côté le manque de données sur le cheminement des malades ne nous permet pas de définir avec précision l'origine des bactéries BGN-NF isolés de divers prélèvements.

Dans notre série, il y a une prédominance masculine (67%), ce résultat dépend des types d'infection et des services d'hospitalisation, on retrouve dans la littérature des études étiologiques démontrant qu'il n'existe pas une différence entre les deux sexes dans l'acquisition d'une infection à *Acinetobacter* spp. **(Wisplinghoff, 2000 ; Garcia-Garmendia, 2001)**.

Nous considérons avec les résultats obtenus que nous sommes en présence de souches multi-résistantes. Il s'avère selon de nombreux auteurs que l'utilisation intensive d'agents antimicrobiens dans les hôpitaux est l'un des facteurs qui contribue à l'émergence de souches multi-résistantes, insensibles à une large gamme d'antibiotiques, y compris la nouvelle génération, à large spectre des β -lactamines, les aminosides et les Fluoroquinolones.

La résistance élevée à l'imipénème est très inquiétante car elle perturbe le protocole de traitement des patients. Au niveau des services de réanimation, l'imipénème est l'antibiotique de choix en particulier, pour le traitement des infections nosocomiales.

Les carbapénèmes ont une puissante activité contre les souches d'*A. baumannii*, jusqu'à nos jours. Ils étaient souvent utilisés pour traiter les infections causées par ces souches multi-résistantes. Malheureusement, ces dernières années, l'émergence et la propagation de la résistance aux carbapénèmes ont été rapportées. Elle est principalement attribuée à la production des carbapénémases, qui peuvent être de classe D d'hydrolyse des carbapénèmes oxacillinases ou, moins fréquemment, classe B métallo β -lactamases. La classe D les oxacillinases chez *A. baumannii* sont principalement représentés par les gènes *blaOXA-23*, *blaOXA-24* et *blaOXA-58* **(Peleg, 2008 ; Kempf, 2012)**

Conclusion

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont des bactéries de l'environnement. Elles sont très rares chez les sujets sains tandis que chez les sujets hospitalisés, elles peuvent atteindre des taux de 50% voir 60% des infections, surtout dans les services de réanimation. Ce sont des microorganismes responsables de pathologies variées, fréquentes et parfois redoutables. Ce caractère redoutable des infections est dû en grande partie au pouvoir toxique de ces agents infectieux et à leur grande capacité de résistance aux antibiotiques.

Depuis plusieurs années, parmi les BGN-nF les plus incriminés dans les infections nosocomiales dans les unités de soins intensifs, on retrouve *A. baumannii*.

Bien que la surveillance des infections aux bacilles à Gram négatif non fermentants en réanimation soit recommandée, peu d'informations sont disponibles car les études publiées sont principalement centrées sur la résistance de cette bactérie aux antibiotiques. Il est par ailleurs, difficile de comparer les taux d'incidence entre hôpitaux et services. C'est pour cela que les investigations épidémiologiques dans les unités de soins intensifs sont indispensables afin de contrôler l'émergence de cette espèce.

A. baumannii pose actuellement, un problème de multi-résistance aux antibiotiques. Elle est aussi dénommée sous la terminologie de BMR (Bactérie Multi-résistante), notamment la résistance aux β -lactamines.

Au sein de cette famille d'antibiotiques, la résistance aux carbapénèmes et particulièrement l'imipénème est d'incidence croissante. Alors que cette molécule était considérée, il ya peu de temps, comme le traitement de choix des infections à *A. baumannii* dans les services de réanimation.

Nous rapportons dans notre travail, l'analyse bactériologique des prélèvements émanant des services de réanimation du CHU de Constantine qui a permis l'isolement des souches d'*A. baumannii* avec un profil de multi-résistance.

Des mesures de contrôle devraient être envisagées rapidement afin d'instaurer un système de veille nationale, pour superviser l'émergence et la propagation des gènes codant pour des carbapénèmases.

Nos résultats mettent l'accent sur l'apparition de souches portant probablement des gènes carbapénèmases OXA-23 et OXA-58 chez *A. baumannii* multi-résistantes ce qui nous incite à mettre en place une stratégie permanente pour anticiper l'apparition de ce type de résistance.

La Stratégie Mondiale OMS pour la maîtrise de la résistance aux antimicrobiens est destinée à répondre à cette préoccupation. Elle offre un cadre d'intervention visant à ralentir l'émergence et à réduire la propagation des micro-organismes résistant aux antimicrobiens à travers les mesures suivantes:

- réduire la charge de morbidité et la propagation des infections
- améliorer l'accès aux antimicrobiens appropriés
- améliorer l'utilisation des antimicrobiens
- renforcer les systèmes de santé et leurs capacités de surveillance

Références bibliographiques

Références

- Bagge N, Ciofu O, Hentzer N, Campbell J I, Givskov M, Hoiby N**, 2002. Constitutive high expression of chromosomal B-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 3406-11.
- Beijerinck M**, 1911. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. *Versl. Koninklijke Akad. Wetensch.* **19**:1092-1103.
- Bergogne-Bérézin E**, 2008. Importance of *Acinetobacter* spp. *Acinetobacter* biology and pathogenesis. Paris Springer: 1-18.
- Berlau J, Aucken H, Malnick H, and Pitt T**, 1999a. Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18:179-83.
- Berlau J H M, Aucken E, Houang, and Pitt T L**. 1999b. Isolation of *Acinetobacter* spp. including *A. baumannii* from vegetables: implications for hospital-acquired infections. *J Hosp Infect* 42:201-4.
- Bernaud G, Benzerara Y, Gravisse J, Raskine L, Sanson-Le pors M J, Labia R, Arlet G**, 2004. Selection during cefepime treatment of a new cephalosporinase variant with extended-spectrum resistance to cefepime In an *Enterobacter aerogenes* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 1040-2.
- Bonnin R A, Nordmann P, Potron A, Lecuyer H, Zahar J R, and Poirel L**, 2011. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **55**:349-54.
- Bou G, Cervero G, Dominguez M A, Quereda C, and Martinez-Beltran J**, 2000. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. *J Clin Microbiol* **38**:3299-305.
- Boukhalfa S**, 2014. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic bactériologique et l'étude des mécanismes de résistance d'*Acinetobacter baumannii* isolé au CHU de Batna. Université de Batna El hadj lakhdar. Thèse de Doctorat.
- Bouvet Philippe JM, Joly Guillou ML**, 2007 *Acinetobacter*. Précis de Bactériologie clinique. Paris ESKA: 1239-1258.
- Braun G**, 2008. Virulence mechanisms of *Acinetobacter*. *Acinetobacter* biology and pathogenesis. Paris Springer: 145-154.

Cattoir V, 2004. Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*. 52 : 607-616.

Cattoir V, 2012. Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue francophone des laboratoires* 445 :79-87.

Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM, 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis*;11: 381-93.

Corvec S, Poirel L, Naas T, Drugeon H, Nordmann P, 2007. Genetics and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene blaOXA-23 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(4):1530-1533.

De Breij A, Eveillard M, Dijkshoorn L, Van den Broek PJ, Nibbering PH et al, 2012. Differences in *Acinetobacter baumannii* Strains and Host Innate Immune Response Determine Morbidity and Mortality in Experimental Pneumonia. *Plos ONE*; 7: E30673.

Decré D, 2012. *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques. Un modèle d'adaptation. *Revue Francophone des Laboratoires* 441, 43-52.

Delbos V, 2012. Manifestations cliniques et traitement des infections à *Acinetobacter baumannii*. *Revue francophone des laboratoires* Vol 42, N° 441, pp. 59-65.

Dijkshoorn L, Aken E van, Shunburne L, Reijden T J van der, Bernardis A T, Nemeč A, and Towner K J, 2005. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter spp.* in faecal samples from non-hospitalised individuals. *Clin Microbiol Infect* 11:329-32.

Dortet L, Legrand P, Soussy CJ, Cattoir V, 2006. Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, two frequently misidentified opportunistic pathogens. *J Clin Microbiol*;44: 4471-8.

Endimiani A, Luzzaro F, Migliavacca R, Mantengoli E, Hujer A M, Hujer K M, Pagani L, Bonomo R A, Rossolini G M, and Toniolo A, 2007. Spread in an Italian hospital of a clonal *Acinetobacter baumannii* strain producing the TEM-92 extended-spectrum betalactamase. *Antimicrob Agents Chemother* **51**:2211-4.

Espinal P, Roca I, and Vila J, 2011. Clinical impact and molecular basis of antimicrobial resistance in non-*baumannii* *Acinetobacter*. *Future Microbiol* **6**:495-511.

Euzebu JP. *Acinetobacter* Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire créé le 31 décembre 2003, <http://www.bactériocict.fr/bacdico/aa/acinetobacter.html>.

Eveillard M, Joly-Guillou ML, 2011. Infections émergentes à *Acinetobacter baumannii* et circonstances favorisant leur survenue. *Pathologie biologique*.

Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA, 2006. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Microbiology*; 55: 1619–1629.

Figueiredo S, 2011. *Acinetobacter* spp. et réservoir de gènes de carbapénèmases. Université Paris-SUD 11. Thèse de doctorat.

Fomba M, 2006. Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus a* coagulasse négatif à l'hôpital du point G. thèse de doctorat en pharmacie.

Fournier P E, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, Richet H, Robert C, Mangenot S, Abergel C, Nordmann P, Weissenbach J, Raoult D, Claverie J M, 2006. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet.* 2 E7.

Gales AC, Jones RN, Forward KR, Lin˜ares J, Sader HS, Verhoef J, 2001. Emerging Importance of Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Species and *Stenotrophomonas maltophilia* as Pathogens in Seriously Ill Patients: Geographic Patterns, Epidemiological Features, and Trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997–1999. *Clinical Infectious Diseases*; 32: 104-113.

Garcia-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Barrero-Almodovar AE, Gili-Miner M, 2001. Risk Factors for *Acinetobacter baumannii* Nosocomial Bacteremia in Critically Ill Patients: A Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*; 33: 939–946.

Gordon NC, Wareham DW, 2010. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*; 35: 219–226.

Héritier C, Poirel L, Fournier P E, Claverie J M, Raoult D, and Nordmann P, 2005a. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **49**:4174-9.

Héritier, C, Poirel L, and Nordmann P, 2006. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of IS*Abal* in *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect* **12**:123-30.

Huang Z M, Mao P H, Chen Y, Wu L, and Wu J, 2004. [Study on the molecular epidemiology of SHV type beta-lactamase-encoding genes of multiple-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* **25**:425-7.

Jans B, Glupezynski Y, Suetens C et Van Cleemput Els, 2004. Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter baumannii* producteur de BLSE (type VEB-1 en Belgique).

- Joly-Guillou M L**, 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin Microbiol Infect 11:868-73.
- Joly-Guillou ML**, 2006. *Acinetobacter*, Antibiogramme. Paris 2-7475-0907-5.
- Kempf M, Eveillard M, Deshayes C, Ghamrawi S, Lefrançois C, Georgeault S, Bastiat G, Seifert H, Joly-Guillou ML**, 2012 Cell surface properties of two differently virulent strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient. Canadian Journal of Microbiology; 58: 311-317.
- Lavigne J-P**, 2007. Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
- Leblebicioglu, Balik I, Aydin K, and Otkun M**, 1997. Widespread detection of PER-1- type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother **41**:2265-9.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG et al**, 2012. Multidrug resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect; 18: 268–281.
- Merad Boudia E**, 2014. Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaid. Thèse de doctorat.
- Moubareck C, Bremont S, Conroy M C, Courvalin P, and Lambert T**, 2009. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother **53**:3579-81.
- Mugnier PD, Poirel L, Nordmann P**, 2009. Functional analysis of insertion sequence ISAbal, responsible for genomic plasticity of *Acinetobacter baumannii*. J Bacteriol, 191(7):2414-2418.
- Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P**, 2010 Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. Emerg Infect Dis;16: 35-40.
- Murray P R, Pfaller M A, and Tenover F C**, 2005. Medical microbiology, 5th ed, St-Louis, Missouri.
- Mussi MA, Limansky AS, Viale AM**, 2005. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of β barrel outer membrane proteins. Antimicrob Agents Chemother, 49(4):1432-1440.
- Naas T, Namdari F, Reglier-Poupet H, Poyart C, and Nordmann P**, 2007. Panresistant

extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing *Acinetobacter baumannii* from New York City. J Antimicrob Chemother **60**:1174-6.

Naas T, Fortineau N, Nordmann P, 2008. Diffusion de *Acinetobacter baumannii* multirésistant dans les établissements de santé. Hygiènes; XVI: 481-489.

Nagano N, Nagano Y, Cordevant C, Shibata N, and Arakawa Y, 2004. Nosocomial transmission of CTX-M-2 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. J Clin Microbiol **42**:3978-84.

Nemec A, Dijkshoorn L, Cleenwerck I, De Baere T, Janssens D, Van Der Reijden T J, Jezek P, and Vanechoutte M, 2003. *Acinetobacter parvus* sp. nov, a smallcolony-forming species isolated from human clinical specimens. Int J Syst Evol Microbiol **53**:1563-7.

Nemec A, Dolzani L, Brisse S, van den Broek P, and Dijkshoorn L. 2004. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. J Med Microbiol **53**:1233-40.

Nordmann P, 2010. Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif [Bulletin]. Médecine et sciences. 2010/11; 26 : 950-959.

Paton R, Miles RS, Hood J, et al, 1993 ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob Agents;2: 81-7.

Paul M, Weinberger M, Siegman-Igra Y, Lazarovitch T, Ostfeld I, Boldur I, Samra Z, Shula H, Carmeli Y, 2005. *Acinetobacter baumannii*: emergence and spread in Israeli hospitals 1997–2002. Journal of Hospital Infection; 60: 256-260.

Peleg A Y, Seifert H, and Paterson D L, 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev **21**:538-82.

Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA, 2007, Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 51: 3471–3484.

Perronne C, 1999. Maladies infectieuses, volume 1. pp65.

Pfeifer Y, Zander E, Göttig S, Hunfeld KP, Seifert H, Higgins PG, 2011. Complete DNA sequence of blaNDM-1 gene cassette integrated into the chromosome of *Acinetobacter baumannii*. 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases/27th International Congress of Chemotherapy, Abstract O 215.

Philippon A, Arlet G, Jacoby G A, 2002. Plasmid-determined *AmpC*-type B-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. **46**:1-11.

- Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, and Nordmann P**, 2003. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J Clin Microbiol* **41**:3542-7.
- Poirel L, Nordmann P**, 2006. Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*. Edition Masson. 8 (2) : 100-107.
- Rahal K M**, 2012. Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.
- Ravasi P, Limansky AS, Rodriguez RE, Viale AM, Mussi MA**, 2011. ISAb825, a functional insertion sequence modulating genomic plasticity and blaOXA-58 expression in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 55(2):917-920.
- Recchia G D, and Hall R M**, 1997. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons. *Trends Microbiol* 5:389-94.
- Rhinehart E, Walker S, Murphy D, O'Reilly K, Leeman P**, 2012. Frequency of outbreak investigations in US hospitals: Results of a national survey of infection preventionists. *American Journal of Infection Control*; 40: 2-8.
- Richet H, Fournier PE**, 2006. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: A Major Threat Worldwide. *Infection control and hospital epidemiology*; 27: 645-646.
- Rolain JM, Parola P, Cornaglia G**, 2010. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? *Clin Microbiol Infect*;16: 1699-701.
- Rossau R, Landschoot A van, Gillis M, and de Ley J**, 1991. Taxonomy of Moraxellaceae fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and related organisms. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41:310-319.
- Segal H, Garny S, Elisha BG**, 2005. Is ISABA-1 customized for *Acinetobacter*? *FEMS Microbiol Lett* 2005, 243(2):425-429.
- Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, and Vanechoutte M**, 1997. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J Clin Microbiol* 35:2819-25.
- Touati M**. 2013. Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Université Badji Mokhtar. Thèse de Doctorat.
- Turton J F, Ward M E, Woodford N, Kaufmann M E, Pike R, Livermore D M, and Pitt T L**, 2006. The role of ISAb1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett* **258**:72-7.

Toussaint A, Merlin C, 2002. Mobile elements as a combination of functional modules. *Plasmid* 47-26-35.

Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, Coskuncan F, Yaman A, Kaygusuz A, Leblebicioglu H, Balik I, Aydin K, and Otkun M, 1997. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* **41**:2265-9.

Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P, 2005. Metallo-B-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* ; 18 : 306-25.

Wisplinghoff H, Edmond MB, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP, Seifert H, 2000. Nosocomial Bloodstream Infections Caused by *Acinetobacter* Species in United States Hospitals: Clinical Features, Molecular Epidemiology, and Antimicrobial Susceptibility. *Clinical Infectious Diseases*; 31: 690–697.

Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB, 2004. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clinical Infectious Diseases*; 39: 309-317.

Zahoun A, Dao I, Karfo R, Essayagh T, Sekhsokh Y, Bousta M, Elhamzaoui S, 2010. Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie : à propos d'un cas nosocomial. *Pathologie Biologie*. 29-31.

Annexes

Annexe 1. Tableau de classification du genre *Acinetobacter* (Dijkshoorn et al., 2007, Nemec et al., 2011)

Nom de l'espèce	Espèce génomique	Source
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	Environnement et humains
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	Environnement, humains, viande et légumes
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	4	Humains
<i>Acinetobacter junii</i>	5	Humains
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	7	Humains et animaux
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	8,9	Humains et animaux
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	12	Environnement humains et cotton
<i>Acinetobacter ursingii</i>		Humains
<i>Acinetobacter shindleri</i>		Humains
<i>Acinetobacter parvus</i>		Humains et animaux
<i>Acinetobacter baylyi</i>		Environnement et boue
<i>Acinetobacter bouvetii</i>		Boue
<i>Acinetobacter townneri</i>		Boue
<i>Acinetobacter tandoii</i>		Boue
<i>Acinetobacter grimontii</i>		Boue
<i>Acinetobacter tjernbergiae</i>		Boue
<i>Acinetobacter gernerii</i>		Boue
<i>Acinetobacter venetianus</i>		Eau de mer
<i>Acinetobacter pittii</i>	3	Humains et environnement
<i>Acinetobacter noscomialis</i>	13TU	Humains
<i>Acinetobacter bereziniae</i>	10	Humains, environnement, légumes.
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	11	Humains et animaux
	6	Humains
	13BJ ?14TU	Humains
	14BJ	Humains
	15BJ	Humains
	16	Humains et légumes
	17	Humains et environnement
	15TU	Humains et animaux
	Entre 1 et 3	Humains
	Proche de 13 TU	Humains

Annexe 2. Tableau de composition du milieu mannitol mobilité.

composant	Quantité (g/l)	rôle
Peptone tryptique de viande	10	Source d’N, de C et d’énergie
Mannitol	7.5	Lecture d’un caractère biochimique
Nitrate de potassium	1	Lecture d’un caractère biochimique
Rouge de phénol	0.04	Indicateur de pH
Agar	4	gélifiant
PH	7.6	

Annexe 3. Tableau de composition du milieu citrate de Simmons

Composant	Quantité(g/l)
Sulfate de magnésium	0,2
Phosphate monoammonique	1
Phosphate bipotassique	1
Citrate de sodium	2
Chlorure de sodium (NaCl)	5
Hydrogénophosphate d'ammonium	0,2
Hydrogénophosphate d'ammonium monosodique	0,8
Bleu de bromothymol	0,08
Agar	15
Eau distillée (qsp)	1L

Annexe 4. Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *A. baumannii* (CLSI, 2008).

Antibiotique	Sensible	Intermédiaire	Résistante
Aztréonam	≥ 22	16-21	≤ 15
Ceftazidime	≥ 18	15-17	≤ 14
Imipénème	≥ 16	14-15	≤ 13
Pipéracilline	≥ 21	18-20	≤ 17
Ticarcilline	≥ 20	15-19	≤ 14
Ciprofloxacine	≥ 21	16-20	≤ 15
Gentamicine	≥ 15	13-14	≤ 12
Triméthoprim / Sulfaméthoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10
Tobramycine	≥ 15	13-14	≤ 12