

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERI  
FACULTE DE MEDECINE  
TIZI-OUZOU



X·@·EX C·/·A ·X C·A·G·O

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزو

## THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES

### MICROBIOLOGIE

**EVOLUTION PHYLOGENIQUE DE L'ESPECE *ACINETOBACTER BAUMANNII* AU CHU DE TIZI-OUZOU ET ETUDE DE SA RESISTANCE AUX  $\beta$ -LACTAMINES, AMINOSIDES ET QUINOLONES.**

**Présentée par :**

**AZZAM Amina épouse Yataghene**

**Directrice de Thèse :**

**Professeur RAHAL Kheira, faculté de Médecine d'Alger**

**Jury :**

**Président du jury :**

**Directrice de thèse**

**Membre :**

**Membre :**

**Membre :**

**Pr KEZZAL Kamal**

**Pr RAHAL Kheira**

**Pr BELOUNI Rachid**

**Pr HOUACINE Salem**

**Pr AMHIS Wahiba**

**Faculté de médecine d'Alger**

**Faculté de médecine d'Alger**

**Faculté de médecine de Blida**

**Faculté de médecine d'Alger**

**Faculté de médecine d'Alger**

**ANNEE : 2018**

Le but de ce travail était de suivre l'évolution d'une espèce bactérienne responsable d'infections nosocomiales dans notre structure hospitalière, CHU de Tizi-Ouzou sur le plan phylogénique sur quatre ans de 2010 à 2013, c'est-à-dire évaluer si les souches circulantes ont des liens génétiques, et surveiller sa résistance aux familles d'antibiotiques les plus utilisées en thérapeutique  $\beta$ -lactamines, Aminosides et nouvelles Quinolones. Il s'agit de l'espèce *Acinetobacter baumannii*, laquelle a longtemps été considérée comme contaminant de laboratoire.

En effet sur une collection de 128 souches nous avons confirmé la résistance de cette bactérie à des taux dépassant les 60% pour la plupart des molécules, plusieurs mécanismes génétiques de résistances ont été retrouvés, notamment aux  $\beta$ -lactamines, avec mise en évidence de carbapénémases type oxacillinasés et prédominance des oxacillinasés 23, lesquelles dominent au niveau mondial.

Les moyens thérapeutiques semblent avoir atteint leur limite pour lutter contre *Acinetobacter baumannii*. Seule l'application des bonnes pratiques en hygiène hospitalière peut arrêter sa diffusion et son évolution au CHU de Tizi-Ouzou.

## SUMMURY

The therapeutic means seem to have reached their limit to fight *A. baumannii*. Only the application of good practices in hospital hygiene can stop its diffusion and its evolution in our hospital.

Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.



**EVOLUTION PHYLOGENIQUE DE L'ESPECE *ACINETOBACTER BAUMANNII* AU CHU DE TIZI-OUZOU ET ETUDE DE SA RESISTANCE AUX  $\beta$ -LACTAMINES, AMINOSIDES ET QUINOLONES.**

|                            |                          |                                     |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| <b>Président du jury :</b> | <b>Pr KEZZAL Kamal</b>   | <b>Faculté de médecine d'Alger</b>  |
| <b>Directrice de thèse</b> | <b>Pr RAHAL Kheira</b>   | <b>Faculté de médecine d'Alger</b>  |
| <b>Membre :</b>            | <b>Pr BELOUNI Rachid</b> | <b>Faculté de médecine de Blida</b> |
| <b>Membre :</b>            | <b>Pr HOUACINE Salem</b> | <b>Faculté de médecine d'Alger</b>  |
| <b>Membre :</b>            | <b>Pr AMHIS Wahiba</b>   | <b>Faculté de médecine d'Alger</b>  |

**ANNEE : 2018**

## **§Remerciements§**

*Mes remerciements vont à,*

*-Madame le Professeur Rahal Kheira, ma directrice de thèse, pour sa compétence , pour m'avoir encadré et accepté au sein de son service, le laboratoire de bactériologie médicale de l'institut Pasteur d'Algérie, mais aussi pour m'avoir inculqué tout au long de ces années, la discipline et la rigueur scientifique, veuillez trouver ici madame, toute l'expression de ma gratitude, ma reconnaissance infinie, mon profond respect et mon affection. Je mesure cette chance, et cet honneur d'avoir été dirigé par vous, vous êtes notre maître à tous.*

*Mes remerciements vont aussi aux membres du jury, lesquels pour la plupart sont mes enseignants et mes maîtres de toujours, lesquels m'ont inculqué et fait aimer la microbiologie, trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude, respect et reconnaissance :*

*-Professeur Kezzal Kamal, pour avoir accepté de présider ce jury, et d'examiner ce travail. Vous êtes un exemple pour moi, trouvez ici l'expression de ma gratitude infinie et mon profond respect.*

*-Professeur Bellouni Rachid, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Votre bienveillance et compétence ont toujours été pour moi une motivation d'évolution, je vous en remercie profondément.*

*-Professeur Amhis Wahiba, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Votre engagement en matière de lutte contre les infections associées aux soins et votre compétence, ont toujours été une motivation pour moi, trouvez ici l'expression de ma reconnaissance infinie.*

*-Professeur Houacine Salem, pour avoir accepté d'examiner ce travail. J'admire votre engagement en matière de lutte contre les infections associées aux soins et votre compétence, trouvez ici l'expression de toute ma gratitude et profond respect.*

Je remercie également :

*-Madame le Professeur Tali-Maamar Hassiba, pour m'avoir permis de continuer ce travail dans son service, le laboratoire de bactériologie médicale de l'Institut Pasteur d'Algérie, mais aussi pour m'avoir aidée, encouragée, orientée et soutenue, trouves ici Hassiba l'expression de toute ma gratitude et de mon amitié sincère.*

*-Madame le Professeur Benamrouche Nabila pour m'avoir aidée, encouragée, orientée et soutenue, trouves ici Nabila l'expression de mes profonds sentiments d'amitié et de gratitude infinie.*

*-Madame le Professeur Djenane Fazia, pour m'avoir encouragée et aidée à commencer et concrétiser ce travail, par ses encouragements, soutiens sincères et générosité, trouves ici Fazia l'expression de ma gratitude et amitié sincère.*

*-Monsieur le Professeur Plesiat Patrick et son équipe, pour m'avoir acceptée au CNR, centre national de référence des *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* de Besançon (France), m'avoir formée, inculquée la rigueur scientifique, et avoir mis à ma disposition, son savoir et ses compétences.*

*-Berrazeg Meryem, perle rare, laquelle au sein de l'équipe du Pr Plesiat m'a appris tout ce que je connais en biologie moléculaire, je la remercie pour sa générosité, gentillesse et compétence, trouves ici Meryem l'expression de toute mon amitié sincère.*

*-Mr Robin frederic de l'hôpital Clermond ferrand, pour m'avoir aidée à interpréter les profils de macrorestriction.*

*Mes remerciements vont à tout le personnel du laboratoire de bactériologie médicale de l'Institut Pasteur d'Algérie, biologistes, techniciens, secrétaires agents de service, j'ai trouvé au sein de cette équipe une seconde famille : Lafer Nora et Zourdani Nora, pour m'avoir aidé à mener à bien mon travail pratique. Je vous remercie de votre patience, compétence et amitié.*

*Lazizi Salima, Laliem Rym, Assaous Farida, Hesnaoui sonia, Guettou Badea, Hamida Sakhi, Mahieddine..... Pour leur amitié et aussi pour m'avoir soutenue et orientée.*

*Mes remerciements vont à tout le personnel du laboratoire de bactériologie, du CHU de Tizi-Ouzou et à leur tête le docteur Seklaoui Nacera chef de service, pour m'avoir encouragée à réaliser ce travail.*

*Je remercie également toute l'équipe du SEMEP du CHU de Tizi-Ouzou, Pr Toudeft, Dr Saidi, Dr Issiakhem.....*

*Mes plus vifs remerciements vont à tout le personnel de la faculté de médecine de Tizi-ouzou, et à leur tête Monsieur le doyen, le professeur Messaoudi, pour m'avoir soutenue et fournie tous les moyens pour mener à bien mon projet.*

*Et Je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## **§DEDICACES§**

*Je dédis ce travail à,*

*-La mémoire de mes défunts parents, AZZAM AMOKRANE et ADANE BAHYA  
paix à leurs âmes, en d'autres temps, cher père ces remerciements et  
dédicaces auraient été, rédigés de ta légendaire et fine plume dans ton style si  
particulier. Ce travail est la consécration de tous les efforts, encouragements,  
et sacrifices que vous avez consenti pour moi chers parents. Je vous le dédie  
avec toute mon affection et amour. J'espère être à la hauteur de la fierté, que  
vous éprouviez à mon égard, Papa, Maman, reposez en paix.*

*-La mémoire de ma défunte Miminette, Hamadou Yamina, ma seconde mère,  
ton soutien et ton affection inconditionnels me manquent ! Reposes en paix.*

*-Mes très chères sœurs, Meriem, Saliha et mon très cher frère Meziane, ainsi  
que leurs petites familles, pour leurs soutiens incommensurables,  
inconditionnels et leur affection infinie à mon égard, trouvez ici l'expression de  
mes sentiments réciproques.*

*-Mes très chères enfants, prunelles de mes yeux, ma lumière et fleur Yasmine,  
mes soleils Idir et Rabah et à mon mari Belaid pour son soutien constant.*

*-Mes adorables neveux et nièce, Arezki, Malik, Justin, Djawed, Ibrahim et  
Maissa.*

*-A mon beau-frère Mohamed Drir, A ma belle sœur, Sabrina Belhadad-Azzam.*

*-A mes oncles, tantes, cousines, et cousins.*

*-A Agnès et Achour Graine.*

*-A mes amies : Saliha Meftahi, Nachida Addad, Lila Chabane,  
Radia Dali-yahia, Meryem Berrazeg, Nacera Ladjadj et toutes les  
ECCMIDISTES.....*

*ET à tous ceux que j'aime et qui m'aiment*

## SOMMAIRE

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction-problématique.....                                                      | 2  |
| REVUE DE LA LITTERATURE.....                                                         | 6  |
| CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE.....                                                      | 7  |
| I. Bactériologie.....                                                                | 8  |
| I.1.Taxonomie.....                                                                   | 8  |
| I.2.Habitat.....                                                                     | 12 |
| I.3. Caractères morphologiques .....                                                 | 15 |
| I.4.Caractères cultureux et biochimiques.....                                        | 16 |
| I.4.1.Caractères cultureux.....                                                      | 16 |
| I.4.2.Caractères biochimiques .....                                                  | 17 |
| I.5.Caractères antigéniques.....                                                     | 19 |
| CHAPITRE II : PATHOGENICITE.....                                                     | 20 |
| II. Pathogénicité.....                                                               | 21 |
| CHAPITRE III : Généralités sur les antibiotiques et mécanismes de<br>résistance..... | 24 |
| III. Généralités sur les antibiotiques et mécanismes de résistance.....              | 25 |
| III.1.Définition et mode d'action.....                                               | 25 |
| III.2.Les familles d'antibiotiques.....                                              | 27 |
| III.2.1.Les $\beta$ -lactamines.....                                                 | 27 |
| III.2.2.Les aminosides ou aminoglycosides.....                                       | 29 |
| III.2.3. Quinolones et Fluoroquinolones.....                                         | 30 |
| III.2.4. Rifamycines.....                                                            | 30 |

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| III.2.5. Phénicolés.....                                                                     | 31 |
| III.2.6.Tétracyclines et les Glycylcycline.....                                              | 31 |
| III.2.7. Polymyxines.....                                                                    | 32 |
| III.2.7.1.La colistine.....                                                                  | 32 |
| III.2.8.Sulfamides.....                                                                      | 33 |
| III.2.9.Triméthoprimé.....                                                                   | 33 |
| III.3.Rappel sur les mécanismes généraux de la résistance aux antibiotiques.....             | 34 |
| III.3.1.La résistance naturelle.....                                                         | 34 |
| III.3.2.La résistance acquise .....                                                          | 34 |
| III.3.3.Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....                      | 34 |
| III.3.3.1.Inactivation enzymatique.....                                                      | 35 |
| III.3.3.2.Défaut de pénétration de l'antibiotique : diminution de la perméabilité.....       | 35 |
| III.3.3.3.Efflux de l'antibiotique.....                                                      | 36 |
| III.3.3.4. Modification de la cible de l'antibiotique.....                                   | 37 |
| CHAPITRE IV : Résistance aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....           | 38 |
| IV. Résistance aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                     | 39 |
| IV.1. Résistance naturelle.....                                                              | 39 |
| IV.2.Résistance acquise.....                                                                 | 40 |
| IV.2.1.Résistance acquise aux $\beta$ -lactamines chez <i>Acinetobacter baumannii</i> .....  | 41 |
| IV.2.1.1.Rappel sur la classification des $\beta$ -lactamases : classification d'Ambler..... | 41 |

|                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.2.1.2.Les $\beta$ -lactamases retrouvées chez <i>A.baumannii</i> selon la classification d'Ambler..... | 42 |
| IV.2.1.2.1.Pénicillinases.....                                                                            | 43 |
| IV.2.1.2.2.Hyperproduction de Céphalosporinase.....                                                       | 43 |
| IV.2.1.2.3. $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu (BLSE).....                                              | 44 |
| IV.2.1.3.Résistance acquise aux carbapénèmes : mécanismes enzymatiques.....                               | 46 |
| IV.2.1.3.1.Oxacillinases à propriété carbapénémase.....                                                   | 46 |
| IV.2.1.3.1.1.Le sous-groupe OXA -23.....                                                                  | 48 |
| IV.2.1.3.1.2.Le sous groupe OXA-40 (OXA-24).....                                                          | 48 |
| IV.2.1.3.1.3.Le sous groupe OXA-51.....                                                                   | 50 |
| IV.2.1.3.1.4.Le sous groupe OXA-58.....                                                                   | 51 |
| IV.2.1.3.2.Métallo- $\beta$ -Lactamases (MBL).....                                                        | 53 |
| IV.2.1.3.3.Carbapénémases appartenant au groupe A d'Ambler.....                                           | 54 |
| IV.2.1.4.Résistance aux carbapénèmes : mécanismes non-enzymatiques...                                     | 55 |
| IV.2.1.4.1.Diminution de la perméabilité membranaire.....                                                 | 55 |
| IV.2.1.4.2. Efflux .....                                                                                  | 55 |
| IV.2.1.4.3. Modification de PLP.....                                                                      | 56 |
| IV.2.2.Supports Génétiques de la résistance chez <i>A. baumannii</i> .....                                | 57 |
| IV.2.2.1.La résistance chromosomique.....                                                                 | 58 |
| IV.2.2.2. La résistance extra-chromosomique.....                                                          | 58 |
| IV.2.2.2.1.Les séquences d'insertion.....                                                                 | 58 |
| IV.2.2.2.2.Les transposons.....                                                                           | 60 |
| IV.2.2.2.3.Les intégrons.....                                                                             | 60 |

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.2.3.Résistance acquise aux aminosides chez <i>A. baumannii</i> .....                                                            | 61 |
| IV.2.4.Résistance acquise aux fluoroquinolones.....                                                                                | 63 |
| IV.2.5.Résistance acquise aux autres antibiotiques.....                                                                            | 64 |
| CHAPITRE V : MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES.....                                                                                       | 66 |
| V. Marqueurs épidémiologiques.....                                                                                                 | 67 |
| V.1. Sérotypie .....                                                                                                               | 67 |
| V.2. Lysotypie.....                                                                                                                | 67 |
| V.3. Biotypie.....                                                                                                                 | 67 |
| V.4. Typage génomique, ou génotypage et caractérisation d'une<br>épidémie.....                                                     | 67 |
| V.4.1. Profil protéique.....                                                                                                       | 67 |
| V.4.2. Profil plasmidique.....                                                                                                     | 67 |
| V.4.3. Profil de restriction ou restriction endonucléase analysis (REA).....                                                       | 68 |
| V.4.4. Electrophorèse en champ pulsé.....                                                                                          | 68 |
| V.4.4.1. Principe de l'électrophorèse en champs pulsé ou (PFGE).....                                                               | 69 |
| V.4.4.2. Optimisation de la méthode PFGE.....                                                                                      | 70 |
| V.4.5. Multi-Locus Sequence Typing (MLST).....                                                                                     | 72 |
| V.4.6. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP).....                                                                          | 73 |
| V.4.7. Le Système Diversilab® .....                                                                                                | 73 |
| V.4.8. Multiple-Locus Variable number of tandem repeat Analysis<br>(MLVA).....                                                     | 73 |
| V.4.9. <i>bla</i> <sub>OXA-51</sub> sequence-based typing (SBT).....                                                               | 75 |
| V.4.10. Comparaison des différentes méthodes de génotypage utilisées<br>pour l'étude phylogénique de souches lors d'épidémies..... | 75 |
| CHAPITRE VI : CLINIQUE.....                                                                                                        | 79 |

|                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| VI. Clinique.....                                                                                                                                        | 80 |
| VI.1.Les pneumopathies.....                                                                                                                              | 80 |
| VI.1.1.Les pneumopathies communautaires.....                                                                                                             | 80 |
| VI.1.2 .Les pneumopathies nosocomiales.....                                                                                                              | 80 |
| VI.2.Les bactériémies.....                                                                                                                               | 82 |
| VI.3.Infection de la peau et des tissus mous.....                                                                                                        | 82 |
| VI4. Infections du tractus urinaire.....                                                                                                                 | 83 |
| VI.5.Méningite.....                                                                                                                                      | 83 |
| CHAPITRE VII : Diagnostic bactériologique au laboratoire d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                                         | 84 |
| VII. Diagnostic bactériologique d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                                                                  | 85 |
| VII.1.Prélèvements microbiologiques .....                                                                                                                | 85 |
| VII.2. Examen microscopique .....                                                                                                                        | 85 |
| VII.3. Caractères cultureux.....                                                                                                                         | 87 |
| VII.4.Identification.....                                                                                                                                | 89 |
| VII.5. Principales méthodes moléculaires d'identification d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                                        | 92 |
| VII.5.1.Identification d' <i>A. baumannii</i> par détection du gène <i>bla</i> <sub>oxa51-Like</sub> ...                                                 | 92 |
| VII.6. Application de la spectrométrie de masse dans le typage de l'espèce <i>Acinetobacter baumannii</i> et détection des mécanismes de résistance..... | 93 |
| VII.7.Les techniques rapides d'identification d' <i>Acinetobacter baumannii</i> résistant à l'imipénème.....                                             | 93 |
| CHAPITRE VIII : EPIDEMIOLOGIE.....                                                                                                                       | 94 |
| VIII. Epidémiologie.....                                                                                                                                 | 95 |

|                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| VIII.1.Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter</i> sp...                                  | 95  |
| VIII.1.1. <i>Acinetobacter</i> sp au Maghreb et en Algérie.....                                                        | 95  |
| VIII.1.2. <i>Acinetobacter</i> sp au Moyen orient, bassin méditerranéen, Asie du Sud-Est.....                          | 97  |
| VIII.2.Epidémiologie de la clonalité d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                           | 98  |
| VIII.3.Rappels sur les infections nosocomiales ou Infections Associées aux Soins (IAS).....                            | 99  |
| VIII.3.1.Définition.....                                                                                               | 99  |
| VIII.3.2.Epidémiologie des IAS chez <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                               | 100 |
| VIII.3.3.Facteurs de risques d'acquisition d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                     | 103 |
| CHAPITRE IX : Traitement des infections à <i>Acinetobacter baumannii</i> : aspect thérapeutique, aspect préventif..... | 108 |
| IX.Traitement des infections à <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                                    | 109 |
| IX.1.Aspect thérapeutique .....                                                                                        | 109 |
| IX.1.1.Le Sulbactam.....                                                                                               | 109 |
| IX.1.2.La Tigécycline.....                                                                                             | 109 |
| IX.1.3.La Colistine.....                                                                                               | 110 |
| IX.1.4.La Rifampicine.....                                                                                             | 110 |
| IX.1.5.Nouveaux agents thérapeutiques : peptides.....                                                                  | 111 |
| IX.1.6.Autres.....                                                                                                     | 113 |
| IX.1.6.1.Colistine et vancomycine.....                                                                                 | 113 |
| IX.1.6.2.Colistine et rifampicine.....                                                                                 | 113 |
| IX.1.6.3.Association meropénème et monasulfactam (BAL30072).....                                                       | 113 |
| IX.1.6.4.Colistine et tigécycline.....                                                                                 | 113 |

|                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| IX.1.6.5.Sulbactam et carbapénèmes (Meropénème ou Imipénème) .....                                                              | 114 |
| IX.1.6.6.Chloramphénicol et colistine.....                                                                                      | 114 |
| IX.1.6.7.Colistine ou Polymixine B.....                                                                                         | 114 |
| IX.2.Autres moyens.....                                                                                                         | 114 |
| IX.2.1.Activité pro-biotiques de <i>Bacillus subtilis</i> .....                                                                 | 114 |
| IX.2.2.Transplantation fécale.....                                                                                              | 114 |
| IX.2.3.Phagothérapie.....                                                                                                       | 114 |
| IX.2.4.Vaccination.....                                                                                                         | 115 |
| IX.3. Lutte contre <i>Acinetobacter baumannii</i> : aspect préventif .....                                                      | 115 |
| IX.3.1.Lutte contre <i>Acinetobacter baumannii</i> basée sur l'utilisation des<br>bonnes pratiques en hygiène hospitalière..... | 116 |
| IX.3.1.1.Moyens de lutte.....                                                                                                   | 116 |
| IX.3.1.2.Rappels généraux sur la stérilisation.....                                                                             | 117 |
| IX.3.1.1.La stérilisation hospitalière.....                                                                                     | 117 |
| IX.3.1.2.1.1.Définition de la stérilisation et procédés.....                                                                    | 117 |
| X. Méthodologie.....                                                                                                            | 119 |
| X.1.Lieu de l'étude et critères d'inclusion des patients.....                                                                   | 120 |
| X.2.Les prélèvements.....                                                                                                       | 120 |
| X.3.Les services.....                                                                                                           | 121 |
| X.4.Nombre d'échantillons.....                                                                                                  | 121 |
| X.5.Techniques utilisées ou méthodes.....                                                                                       | 122 |
| X.5.1.Identification des souches : identification biochimique et<br>moléculaire.....                                            | 122 |
| X.5.2. Etude phénotypique de l'antibiorésistance : Antibiotypie.....                                                            | 122 |

|                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| X.5.2.1.Antibiogramme.....                                                               | 122 |
| X.5.2.2.Tests complémentaires phénotypiques.....                                         | 123 |
| X.5.2.2.1.Recherche des $\beta$ -lactamase à Spectre Etendu.....                         | 124 |
| X.5.2.2.2.Recherche de la Céphalosporinase (Case).....                                   | 125 |
| X.5.2.2.3.Recherche des Carbapénèmases.....                                              | 125 |
| X.5.2.2.4.Test à l'arbekacine.....                                                       | 126 |
| X.5.2.3.Concentration Minimale Inhibitrice.....                                          | 127 |
| X.5.2.4.Analyses phénotypiques des mécanismes de résistance<br>aux carbapénèmes.....     | 128 |
| X.5.3. Recherche des gènes de résistance par PCR standard.....                           | 129 |
| X.5.3.1.Protocole de la PCR .....                                                        | 129 |
| X.5.4.Séquençage des gènes de résistance.....                                            | 131 |
| X.5.5.Recherche d'un lien génétique : génotypage ou étude de<br>clonalité.....           | 131 |
| X.5.5.1.Electrophorèse en champ pulsé ou PFGE.....                                       | 131 |
| X.5.5.2.Multiple-Locus Variable number of tandem repeat Analysis<br>(MLVA).....          | 132 |
| X.5.5.3. blaOXA-51 sequence-based typing (SBT).....                                      | 132 |
| X.5.6.Etude statistique.....                                                             | 133 |
| CHAPITRE XI. RESULTATS.....                                                              | 134 |
| XI. Résultats obtenus sur les souches collectées.....                                    | 135 |
| XI.1.Répartition des souches collectées de 2010 à 2013 par<br>année.....                 | 135 |
| XI.2. Répartition des souches collectées par spécialité cliniques<br>de 2010 à 2013..... | 135 |

|                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| XI.3. Répartition des souches collectées par sites de 2010 à 2013.....                                                                                | 138 |
| XI.4.Résultats de l'étude Phénotypique : sensibilité des souches collectées aux antibiotiques selon l'antibiogramme et les tests complémentaires..... | 140 |
| XI.4.1.Antibiotypie.....                                                                                                                              | 140 |
| XI.4.2.Tests complémentaires.....                                                                                                                     | 147 |
| XI.4.3.Résultats des CMI.....                                                                                                                         | 148 |
| XI.4.4.Résultat de résistance aux principales $\beta$ -lactamines.....                                                                                | 151 |
| XI.4.4.1.Evolution de la résistance aux $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013.....                                                                       | 151 |
| XI.4.4.2.Test statistique.....                                                                                                                        | 152 |
| XI.4.5.Résultat des résistances aux aminosides.....                                                                                                   | 153 |
| XI.4.5.1.Evolution de la résistance aux aminosides de 2010 à 2013.....                                                                                | 154 |
| XI.4.5.2.Test statistique.....                                                                                                                        | 155 |
| XI.4.6. Résultat de résistance aux quinolones.....                                                                                                    | 156 |
| XI.4.6.1.Evolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013.....                                                                                 | 157 |
| XI.4.6.2.Test statistique.....                                                                                                                        | 158 |
| XI.4.6. Sensibilité aux autres molécules antibiotiques.....                                                                                           | 159 |
| XI.5. Résultats de l'étude génotypique : Caractérisation des gènes de résistance par amplification génique ou Polymérase Chain Réaction(PCR).....     | 160 |
| XI.5.1.Résultats des PCR en images.....                                                                                                               | 161 |
| XI.5.2.Types de $\beta$ -lactamases retrouvées et correspondances génotype, phénotype.....                                                            | 164 |
| XI.5.3.Résultats du Séquençage.....                                                                                                                   | 165 |

|                                                                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| XI.6. Analyse des mécanismes de résistance par familles d'antibiotiques.....                                                 | 166 |
| XI.6.1. $\beta$ -lactamines.....                                                                                             | 166 |
| XI.6.1.1. Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines (non associés).....                                               | 166 |
| XI.6.1.2. Répartition des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines, (associés ou non) selon les phénotypes par année | 167 |
| XI.6.1.3.Evolution des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines par années.....                                      | 169 |
| XI.6.1.4.Test statistique.....                                                                                               | 170 |
| XI.6.1.5. Répartition des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines par spécialités cliniques.....                    | 173 |
| XI.6.2.Les aminosides.....                                                                                                   | 175 |
| XI.6.2.1.Mécanismes de résistance aux aminosides (non associés)                                                              | 175 |
| XI.6.2.2. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides (associés ou non) selon les phénotypes par années...       | 176 |
| XI.6.2.3.Evolution des mécanismes de résistance aux aminosides par années.....                                               | 178 |
| XI.6.2.4.Test statistique.....                                                                                               | 178 |
| XI.6.2.5.Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides par spécialités cliniques.....                              | 181 |
| XI.6.3.Les quinolones.....                                                                                                   | 182 |
| XI.6.3.1.Mécanismes de résistances aux quinolones (non associés).....                                                        | 182 |
| XI.6.3.2. Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones (associés ou non) selon les phénotypes par années.....     | 183 |
| XI.6.3.3.Evolution des mécanismes de résistance aux quinolones par années.....                                               | 184 |

|                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| XI.6.3.4. Test statistique.....                                                                     | 184 |
| XI.6.3.5. Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones<br>par spécialités cliniques..... | 184 |
| XI.7. Résultats des souches de 2000 et 2001.....                                                    | 185 |
| XI.8. Résultats de l'étude phylogénique ( clonalité ou<br>génotypage).....                          | 187 |
| XI.8.1. Résultat de la <i>bla</i> <sub>OXA51</sub> séquence base typing.....                        | 187 |
| XI.8.2. Résultat de la PFGE.....                                                                    | 190 |
| XI.8.3. Résultat de la MLVA.....                                                                    | 194 |
| XI.8.4. Evolution chronologique des carbapénémases, corrélée aux<br>clones.....                     | 196 |
| Discussion et perspectives.....                                                                     | 201 |
| Conclusion et recommandations.....                                                                  | 226 |
| Bibliographie.....                                                                                  | 234 |
| Annexes.....                                                                                        | 259 |

## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fig 1. <i>Acinetobacter</i> cocco-bacille à Gram Négatif.....                                                                                                                                                                       | 16 |
| Fig 2.Mécanisme d'action des antibiotiques.....                                                                                                                                                                                     | 26 |
| Fig 3.Diversité des $\beta$ -lactamases de classe D.....                                                                                                                                                                            | 52 |
| Fig 4.Transposons associés au gène blaOXA-23 chez <i>A.baumannii</i> .....                                                                                                                                                          | 59 |
| Fig 5.Schéma représentatif de la technique PFGE.....                                                                                                                                                                                | 69 |
| Fig 6.Schéma représentatif de l'appareil utilisé dans la méthode PFGE :<br>appareil CHEF.....                                                                                                                                       | 70 |
| Fig 7.Profil d'électrophorèse en champ pulsé obtenu à partir de sept<br>souches.....                                                                                                                                                | 71 |
| Fig 8.Dendrogramme obtenu à partir du champ pulsé.....                                                                                                                                                                              | 71 |
| Fig 9.Schéma représentant de la technique MLST.....                                                                                                                                                                                 | 72 |
| Fig 10.Schéma représentant la technique MLVA.....                                                                                                                                                                                   | 74 |
| Fig 11.Dendrogramme différenciant les oxacillinases à activité<br>carbapénémase( et variants)(A), et oxacillinases variantes de<br>l'oxacillinase intrinsèque bla <sub>oxa</sub> 51 corrélées aux clones internationaux<br>(B)..... | 78 |
| Fig 12.Aspect coccoïde à Gram variable.....                                                                                                                                                                                         | 86 |
| Fig 13. <i>Acinetobacter</i> dans un prélèvement pulmonaire.....                                                                                                                                                                    | 86 |
| Fig 14.Culture d'une souche d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur gélose<br>Trypticase soja : Colonies « smooths » ou muqueuses .....                                                                                               | 88 |
| Fig 15.Culture d'une souche d' <i>A. baumannii</i> sur gélose Trypticase soja<br>colonies « rough » ou smooth.....                                                                                                                  | 88 |
| Fig 16. <i>Acinetobacter baumannii</i> : prélèvement de dépistage sur Drigalski                                                                                                                                                     | 88 |
| Fig 17.Gélose UTI additionnée d'un disque de ceftazidime et imipénème...                                                                                                                                                            | 88 |
| Fig 18.Api 20E d'une souche d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                                                                                                                                                                 | 90 |
| Fig 19.Stratégie diagnostique d' <i>Acinetobacter.sp</i> au laboratoire.....                                                                                                                                                        | 91 |

|                                                                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Fig 20.Cartographie de la dissémination mondiale du gène blaOXA-23.....                                                                                                          | 98  |
| Fig 21.Représentation de la formation d'un biofilm.....                                                                                                                          | 101 |
| Fig 22.Antibiogramme d'une souche d'A baumannii sensible effectué au<br>CNR, et antibiotiques testés (antibiogramme pratiqué sur la souche<br>2134/13 de Tizi-ouzou au CNR)..... | 123 |
| Fig 23.Recherche phénotypique de BLSE, par le test de rapprochement<br>de disques de la souche 3900/13(CHU Tizi-Ouzou/CNR).....                                                  | 125 |
| Fig 24.Recherche de MBL par le test Imipenème+EDTA sur la souche<br>3900/13 CHU de Tizi-ouzou(CNR).....                                                                          | 126 |
| Fig 25.Test à l'Arbekacine pratiqué sur la souche 4474/01 de l'année<br>2001 au CNR.....                                                                                         | 127 |
| Fig 26.Répartition des souches collectées par spécialités cliniques de<br>2010 à 2013.....                                                                                       | 136 |
| Fig 27.Répartition des souches en soins intensifs.....                                                                                                                           | 136 |
| Fig 28.Répartition des souches par spécialités chirurgicales .....                                                                                                               | 137 |
| Fig 29.Répartition des souches aux urgences.....                                                                                                                                 | 138 |
| Fig 30.Répartition des souches collectées par site anatomique de 2010 à<br>2013.....                                                                                             | 139 |
| Fig 31.Antibiogramme de la souche 2120 /2012 CHU de Tizi-ouzou(CNR)                                                                                                              | 140 |
| Fig 32. Antibiogramme de la souche 4476 /01 CHU de Tizi-ouzou(CNR)...                                                                                                            | 141 |
| Fig 33. Antibiogramme de la souche 855 /11 CHU de Tizi-Ouzou(CNR)....                                                                                                            | 142 |
| Fig 34. Antibiogramme de la souche 1034 /13 CHU de Tizi-Ouzou (CNR)..                                                                                                            | 143 |
| Fig 35. Antibiogramme de la souche 3600 /13 CHU de Tizi-ouzou(CNR)..                                                                                                             | 144 |
| Fig 36.Antibiogramme de la souche 3900 /13 CHU de Tizi-ouzou(CNR)....                                                                                                            | 145 |
| Fig 37.Antibiogramme de la souche 6234/11 CHU de Tizi-ouzou(CNR).....                                                                                                            | 146 |
| Fig 38.Positivité des tests complémentaires.....                                                                                                                                 | 147 |

|                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Fig 39. E-test Imipénème et Imipénème+EDTA (image sur une souche 3900/13 CHU de Tizi-Ouzou).....                                                                         | 148 |
| Fig 40.Résistance aux $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013.....                                                                                                            | 151 |
| Fig 41. Evolution de la résistance aux $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013 .....                                                                                          | 152 |
| Fig 42.Courbe de tendance de l'évolution de la résistance à l'imipénème/meropenème.....                                                                                  | 153 |
| Fig 43.Résistance aux aminosides de 2010 à 2013.....                                                                                                                     | 153 |
| Fig 44.Evolution des résistances aux aminosides de 2010 à 2013 .....                                                                                                     | 154 |
| Fig 45.Courbe de tendance du phénotype sensible aux aminosides.....                                                                                                      | 155 |
| Fig 46.Résistance aux quinolones de 2010 à 2013.....                                                                                                                     | 156 |
| Fig 47.Evolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013.....                                                                                                      | 157 |
| Fig48.Courbe de tendance de l'évolution de la résistance à la ciprofloxacine.....                                                                                        | 158 |
| Fig 49.Courbe de tendance du phénotype sensible aux quinolones.....                                                                                                      | 158 |
| Fig 50 . Résistance globale aux antibiotiques des souches collectées.....                                                                                                | 159 |
| Fig 51.Images de PCR Positives pour les gènes, <i>bla</i> <sub>Oxa51</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTXM</sub> .....                                | 161 |
| Fig 52.Images de PCR positives pour les gènes <i>bla</i> <sub>Oxa24</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM1</sub> , <i>bla</i> <sub>Oxa23</sub> , <i>bla</i> <sub>Oxa58</sub> ..... | 162 |
| Fig 53.Images de PCR Positives pour les gènes ANT2''-I, APH3' -VI, ArmA .....                                                                                            | 163 |
| Fig 54.Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines (seuls).....                                                                                                     | 166 |
| Fig 55.Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines selon les phénotypes .....                                                                                       | 168 |
| Fig 56.Evolution des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines par années.....                                                                                    | 169 |
| Fig 57.Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme Céphalosporinase+pénicillinase TEM.....                                                                            | 171 |

|                                                                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Fig 58. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme Case+TEM +BLSE.....                                                 | 171 |
| Fig 59.Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme Oxacillinase 24+céphalosporinase.....                                | 172 |
| Fig 60.Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme NDM1 .....                                                           | 172 |
| Fig 61.Répartition des mécanismes de résistance des $\beta$ -lactamines par spécialités clinique.....                      | 174 |
| Fig 62. Mécanismes de résistance aux aminosides (seuls).....                                                               | 175 |
| Fig 63. Mécanismes de résistance aux aminosides selon les phénotypes                                                       | 177 |
| Fig 64. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides de 2010 à 2013.....                                        | 178 |
| Fig 65. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme aac (3)-Ia+ANT (2'')-I +aadA.....                                   | 179 |
| Fig 66.Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme aac(3)-Ia+APH (3')-VI+AAC (6')-I+aadA.....                           | 179 |
| Fig 67.Courbe de tendance du mécanisme aac(3)-Ia+ANT(2'')-I+APH(3')-VI+aadA.....                                           | 180 |
| Fig 68. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides par spécialités cliniques.....                             | 181 |
| Fig 69.Mécanismes de résistance aux quinolones (seuls).....                                                                | 182 |
| Fig 70.Mécanismes de résistance aux quinolones selon les phénotypes...                                                     | 183 |
| Fig 71.Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par années.....                                             | 184 |
| Fig 72.Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par spécialités cliniques.....                              | 185 |
| Fig 73.PCR simplex Oxa 69 .....                                                                                            | 187 |
| Fig 74.Profils de Macrorestriction de l'ADN génomique par l'enzyme Apal (photo PFGE DE 19 souches CHU Tizi-ouzou/IPA)..... | 190 |
| Fig75. Arbre phylogénique ou dendrogramme.....                                                                             | 191 |

|                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Fig 76.PCR de la technique MLVA des cinq gènes d'ancrage pour les souches 2 et 5.....                                              | 194 |
| Fig 77.Evolution chronologique des carbapénèmases.....                                                                             | 196 |
| Fig 78.Répartition des carbapénèmases par spécialités cliniques.....                                                               | 197 |
| Fig 79.Taux de résistance aux antibiotiques comparés à ceux du réseau AARN.....                                                    | 219 |
| Fig 80.Affiliation des oxa-type 66, 371 et 94 aux clones internationaux selon Kamolvit.....                                        | 221 |
| Fig 81.Transposon Tn2006, hébergeant l'oxacillinase 23, entourée en amont et en aval de la séquence d'insertion <i>Isba1</i> ..... | 224 |

## Liste des Tableaux

|                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 1.</b> Description des espèces appartenant au genre <i>Acinetobacter</i> .....                                                | 11  |
| <b>Tableau 2.</b> Les Caractères biochimiques d' <i>Acinetobacter</i> sp.....                                                            | 18  |
| <b>Tableau 3.</b> $\beta$ -lactamases retrouvées chez <i>A.baumannii</i> selon la classification d'Ambler.....                           | 42  |
| <b>Tableau 4.</b> Phénotype de résistance chez <i>A. baumannii</i> vis-à-vis des $\beta$ -lactamines.....                                | 45  |
| <b>Tableau 5.</b> Autres Mécanismes de résistance pouvant être impliqués dans la résistance d' <i>A. baumannii</i> aux carbapénèmes..... | 57  |
| <b>Tableau 6.</b> Enzymes d'inactivation des aminosides les plus communes chez <i>A. baumannii</i> et substrats préférentiels.....       | 63  |
| <b>Tableau 7.</b> Corrélation entre les variants de l'oxacillinase intrinsèque 51 et séquences types.....                                | 77  |
| <b>Tableau 8.</b> Nombre et pourcentage de souches collectées.....                                                                       | 135 |
| <b>Tableau 9.</b> Nombre et pourcentage de souches collectées par spécialités cliniques.....                                             | 135 |
| <b>Tableau 10.</b> Répartition des souches par spécialités médicales .....                                                               | 137 |
| <b>Tableau 11.</b> Nombre et pourcentage des souches par site anatomiques de 2010 à 2013.....                                            | 138 |
| <b>Tableau 12.</b> Répartition des souches invasives isolées d'hémocultures et de LCR par services et par années.....                    | 139 |
| <b>Tableau 13.</b> Positivité des tests complémentaires.....                                                                             | 147 |
| <b>Tableau 14.</b> Valeurs de CMI à l'imipénème des différentes carbapénèmases.....                                                      | 148 |
| <b>Tableau 15.</b> Valeurs de CMI de la colistine associées aux phénotypes de résistance des $\beta$ -lactamines.....                    | 149 |
| <b>Tableau 16.</b> Répartition des souches dont la CMI est de 256 à la Netilmicine par années.....                                       | 150 |

|                                                                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 17.</b> Evolution de la résistance aux $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013.....                                                         | 151 |
| <b>Tableau 18.</b> $\beta$ -lactamines pour lesquelles l'évolution de la résistance n'est pas significative.....                                  | 152 |
| <b>Tableau 19.</b> Evolution de la résistance aux aminosides de 2010 à 2013                                                                       | 154 |
| <b>Tableau 20.</b> Valeurs de tendance du KHI 2 des molécules aminosides, et de leur sensibilité.....                                             | 155 |
| <b>Tableau 21.</b> Résistance aux quinolones.....                                                                                                 | 156 |
| <b>Tableau 22.</b> Evolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013...                                                                     | 157 |
| <b>Tableau 22 bis.</b> Sensibilité aux autres molécules antibiotiques.....                                                                        | 159 |
| <b>Tableau 23.</b> PCR préconisées pour les $\beta$ -lactamines en fonction des phénotypes.....                                                   | 160 |
| <b>Tableau 24.</b> PCR préconisées pour les aminosides selon les phénotypes.....                                                                  | 160 |
| <b>Tableau 25.</b> $\beta$ -lactamases retrouvées après PCR et test complémentaires.....                                                          | 164 |
| <b>Tableau 26.</b> Correspondances phénotypiques et génotypiques pour les $\beta$ -lactamines.....                                                | 164 |
| <b>Tableau 27.</b> Résultats du séquençage.....                                                                                                   | 165 |
| <b>Tableau 28.</b> Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines (non associés) des 128 souches.....                                           | 166 |
| <b>Tableau 29.</b> Répartition des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines, (associés ou non) en fonction des phénotypes par années..... | 167 |
| <b>Tableau 30.</b> Mécanismes de résistance des $\beta$ -lactamines pour lesquels l'évolution n'est pas significative de 2010 à 2013.....         | 170 |
| <b>Tableau 31.</b> Mécanismes génétiques des $\beta$ -lactamines pour lesquels l'évolution est significative.....                                 | 170 |
| <b>Tableau 32.</b> Répartition des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines par spécialités clinique.....                                 | 173 |

|                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 33.</b> Mécanismes de résistance aux aminosides (non associés)                                                                                 | 175 |
| <b>Tableau 34.</b> Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides, (associés ou non) en fonction des phénotypes par années...                    | 176 |
| <b>Tableau 35.</b> Mécanismes de résistance aux aminosides pour lesquels l'évolution au cours des quatre années n'est pas significative.....              | 178 |
| <b>Tableau 36.</b> Mécanismes (associés) de résistance aux aminosides pour lesquels l'évolution est significative .....                                   | 179 |
| <b>Tableau 37.</b> Répartition des mécanismes de résistance aux Aminosides par spécialités cliniques en pourcentage des 128 souches.....                  | 181 |
| <b>Tableau 38.</b> Mécanismes de résistance aux quinolones non associés des 128 souches.....                                                              | 182 |
| <b>Tableau 39.</b> Répartition des mécanismes de résistance (associés ou non aux quinolones selon les phénotypes.....                                     | 183 |
| <b>Tableau 40.</b> Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par spécialités cliniques de 2010 à 2013.....                                  | 184 |
| <b>Tableau 41.</b> Répartition des souches de 2000 et 2001 par sites anatomiques, par secteur de soins et mécanismes de résistance aux antibiotiques..... | 185 |
| <b>Tableau 42.</b> Résultat du séquençage des produits purifiés de la PCR Oxa 69 .....                                                                    | 188 |
| <b>Tableau 43.</b> Récapitulatif des résultats de la PFGE et Oxacillinase-type, reclassées selon le dendrogramme.....                                     | 192 |
| <b>Tableau 44.</b> Souches hébergeant le mécanisme oxacillinase 23 (clone II).....                                                                        | 195 |
| <b>Tableau 45.</b> Evolution chronologique des carbapénémases de 2010 à 2013.....                                                                         | 196 |
| <b>Tableau 46.</b> Répartition des carbapénémases par spécialités cliniques...                                                                            | 197 |
| <b>Tableau 47.</b> Répartition des souches hébergeant les Oxacillinases 24 par services, par années et par sites anatomiques.....                         | 198 |

|                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 48.</b> Répartition des souches NDM1, par années, par services et par sites anatomiques..... | 199 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 49.</b> Répartition des souches hébergeant les Oxacillinases 58 par années, par services et par sites anatomiques..... | 200 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## Liste des annexes

|                                                                                                                                                                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Annexe 1.</b> Démarche d'analyse des souches d' <i>A.baumannii</i> par le CNR                                                                                                                                              | 260 |
| <b>Annexe 2.</b> Technique de l'antibiogramme par diffusion des disques.....                                                                                                                                                  | 261 |
| <b>Annexe 3.</b> Tests complémentaires : recherche de la céphalosporinase<br>AmpC, $\beta$ LSE , Metallo- $\beta$ -lactamases.....                                                                                            | 264 |
| <b>Annexe 4.</b> Protocole d'extraction d'ADN : Protocole QIAGEN.....                                                                                                                                                         | 269 |
| <b>Annexe 5.</b> Protocole PCR.....                                                                                                                                                                                           | 271 |
| <b>Annexe 6.</b> Programme du thermocycleur.....                                                                                                                                                                              | 273 |
| <b>Annexe 7.</b> Protocole de purification des produits de PCR, en vue du<br>séquençage.....                                                                                                                                  | 274 |
| <b>Annexe 8.</b> Exemple de séquences obtenues pour les $\beta$ -lactamases.....                                                                                                                                              | 275 |
| <b>Annexe 9.</b> Protocole de la PFGE.....                                                                                                                                                                                    | 278 |
| <b>Annexe 10.</b> Mode opératoire MLVA et résultats.....                                                                                                                                                                      | 279 |
| <b>Annexe 11.</b> Précautions standards, précautions complémentaires de<br>type protecteur et aseptique et extraits des directives relatives à<br>l'hygiène hospitalière dans les établissements de soins publics et privés.. | 281 |
| <b>Annexe 12.</b> Rapport d'enquête microbiologique PU de Chirurgie (salle<br>de réanimation).....                                                                                                                            | 292 |
| <b>Annexe 13.</b> Tableau d'interprétation des diamètres de sensibilité et CMI<br>CLSI.....                                                                                                                                   | 295 |
| <b>Annexe 14.</b> Séquençage des souches génotypées.....                                                                                                                                                                      | 296 |
| <b>Annexe15.</b> Liste des amorces utilisées et leurs séquences.....                                                                                                                                                          | 298 |

## Liste des abréviations

***A.baumannii*** : *Acinetobacter baumannii*  
**ADN** : Acide Désoxyribonucléique  
**AmpC** : gène de la Céphalosporinase  
**ARN** : Acide Ribonucléique  
**ARNm** : ARN messenger  
**AME** : Aminoglycoside modifying enzyme  
**ANT** : Aminoglycoside nucléotidyltransférase  
**APH** : Aminoglycoside phosphotransférase  
**AAC** : Acéthylase  
**BET** : Bromure d'éthidium  
**BGN** : bacille à Gram négatif  
**BLSE** :  $\beta$ -Lactamase à Spectre Etendu  
**BMR** : bactérie multirésistante  
**CA.SFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie  
**Case** : enzyme céphalosporinase  
**CHDL** : carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase  
**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice  
**CNR** : Centre National de Référence pour *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* de Besançon (France).  
**EDTA** : acide éthylène diamine tétraacétique  
**gen.sp.** : espèce génomique  
**IS** : insertion séquence (séquence d'insertion)  
**IPM R** : souche résistante à l'imipénème  
**IPM S** : souche sensible à l'imipénème  
**Kb** : kilobase (=1000 paires de base)  
**LPS** : lipopolysaccharide  
**MALDI-TOF MS** : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass spectrometry  
**M $\beta$ L** : métallo- $\beta$ -lactamase  
**NaCl** : chlorure de sodium  
**NDM** : New-Delhi Métallo- $\beta$ -lactamase  
**OXA** : oxacillinase  
**Pb** : paire de bases  
**PCR** : polymerase chain reaction  
**PLP** : protéine liant les pénicillines  
**P** : *Pseudomonas*  
**rpm** : Round per minute  
**rpoB** : RNA polymérase  $\beta$ - subunit  
**sp.** : Espèce  
**TBE** : Tris-borate-EDTA  
**Tn** : transposon  
**TEM** : Pénicillinase TEM

### **Abréviations spécifiques aux antibiotiques.**

**AN : Amikacine.**

**AM : Ampicilline**

**AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique.**

**ATM : Aztréonam.**

**CTX : Céfotaxime.**

**CAZ : Céftazidime.**

**CS : Colistine.**

**CIP : Ciprofloxacine.**

**FEP : Céfépime.**

**GM : Gentamicine.**

**IPM : Imipénème.**

**MEM : Méropénème**

**PIP : Pipéracilline.**

**PPT : Pipéracilline/tazobactam.**

**TIC : Ticarcilline.**

**TCC : Ticarcilline/acide clavulanique.**

**TM : Tobramycine.**

# **INTRODUCTION PROBLEMATIQUE**

---

### Introduction problématique

*Acinetobacter sp* est un coccobacille à Gram négatif non fermentatif ubiquitaire et rencontré aussi dans la flore de la peau humaine. Au cours de ces dernières années la taxonomie a fait d'énormes progrès et distingue plus de 20 espèces. Chez l'homme on trouve surtout *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter jonhsonni*, *Acinetobacter radioresistens*. L'espèce la plus importante dans le cadre des infections nosocomiales est *Acinetobacter baumannii* (antérieurement *A calcoaticus var anitratus*)(1). *Acinetobacter baumannii* est majoritairement isolé en milieu hospitalier chez des patients en unité de soins intensifs et se caractérise plus par sa grande capacité à acquérir des résistances à de nombreux antibiotiques que par sa virulence (2) (3).

***Acinetobacter baumannii*** est principalement impliqué dans des épidémies en réanimation ou chez des patients immunodéprimés et soumis à une forte pression de sélection par les antibiotiques.

C'est une espèce qui est le premier pathogène responsable d'infection nosocomiale en réanimation dans certains pays du pourtour méditerranéen (3).

Elle est une cause croissante de pneumonie en réanimation, sa transmission se fait à partir d'une source commune. Le contrôle d'une épidémie à *Acinetobacter sp* nécessite des efforts importants comme la mise en place de protocoles d'isolements, éventuellement de dépistage des patients et parfois fermeture de services (4).

L'épidémiologie hospitalière requiert des outils performants de typage moléculaire afin de confirmer ou d'exclure un lien génétique entre plusieurs isolements notamment pour la mise en évidence de la clonalité de souches (5).

L'hygiène hospitalière a toujours constitué au décours de notre parcours un centre d'intérêt particulier car en effet le bactériologiste y joue un rôle central dans la lutte contre les infections nosocomiales. Cela non seulement en identifiant les germes hospitaliers ainsi que leur résistance aux antibiotiques

## INTRODUCTION PROBLEMATIQUE

---

mais aussi de manière précoce en alertant directement ses partenaires en matière de lutte contre l'infection nosocomiale à savoir : l'épidémiologiste, le clinicien, le pharmacien et l'administrateur.

Ceux-ci sont tous aptes chacun dans son domaine de compétence à aboutir à rompre la chaîne de transmission de ces germes en travaillant en synergie et ce dans le contexte du comité de lutte contre l'infection nosocomiale le CLIN organe officiel de l'établissement.

Ces germes pour la plupart sont des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) : entérobactéries, *Staphylocoques*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

L'espèce qui a suscité notre attention est *Acinetobacter baumannii* laquelle depuis quelques années apparaît dans certains services d'hospitalisation sous forme de bouffées épidémiques de manière croissante, ce qui nous fait évoquer qu'une source bien précise à l'origine de la dissémination de cette souche ne se tarit pas. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les services concernés recrutent leurs patients à partir des urgences chirurgicales. Parmi les services sont surtout impliqués : les urgences elles mêmes, les réanimations chirurgicales et médicales et les services chirurgicaux.

En effet en se basant sur les données de notre laboratoire (données personnelles non publiées) et afin de situer le contexte de notre étude *Acinetobacter baumannii*, est passé de 2% (3/128) des isolats au CHU de Tizi-ouzou pour ce qui est des germes hospitaliers en 2000, à 14% (296/2030) en 2015 se positionnant devant *Pseudomonas aeruginosa* lequel était à 28% (19/128) en 2000 et qui est passé à 9% en 2015 (188/2030), *Acinetobacter baumannii* prend la troisième place des isolats en 2015 et vient après E-coli 30% (618/2030) et *Klebsiella pneumoniae* 19% (392/2030), alors qu'en 2000 et durant toute la décennie il se positionnait en dernière position avec un pic notable en 2005 de 14%(104/730), période où des travaux de rénovations des services ont été entrepris au CHU taux redescendu à 6% en 2006.

## INTRODUCTION PROBLEMATIQUE

---

Aussi sa résistance aux antibiotiques évaluée de 2005 à 2015 montre des taux supérieurs à 70%, alors que pour *Pseudomonas aeruginosa* celle-ci ne dépasse guère les 30%.

Pour ce qui est de la résistance aux carbapénèmes d'*Acinetobacter baumannii* celle-ci est apparue dès 2010 avec 5% (5/95) des souches, pour arriver à 68%(202/296) des souches en 2015, ce qui dénote d'une évolution en flambée épidémique, alors que la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème est plus ancienne elle était de 11% (5/45) des souches en 2003, ce taux atteint 3%(4/128) des souches en 2013, ce qui nous fait constater l'évolution inverse de ces deux germes de l'environnement hospitalier, en terme d'isolats et de résistance aux antibiotiques. Ce constat est étayé par le fait qu'en terme de BMR *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème a pris la tête en 2013 avec 37% des souches, ( devant *Klebsiella pneumoniae* BLSE+, et *Escherichia-coli* BLSE+), celles-ci pour la plupart évoluent principalement en soins intensifs et en chirurgie.

L'observation de ces données montrant l'évolution de cette bactérie a étayé l'intérêt porté à cette bactérie pour cela, et en vue d'approfondir les données la concernant, nous nous sommes fixés deux objectifs principaux pour notre étude :

-Le premier objectif de notre travail est de prouver un lien clonal appelé également relation phylogénique ou phylogénétique à partir de souches collectées entre 2010 et 2013, mais aussi sur des souches conservées des années 2000 et 2001. La relation phylogénique de ces souches ne peut être établie que par des techniques de biologie moléculaire ou génotypage. L'électrophorèse en champs pulsé ou PFGE est une technique de choix indiquée dans ce cas précis qui permet d'identifier les clones sans étude de séquence spécifiquement.

D'autres techniques de génotypage, actualisées aussi performantes, apportent bien plus et permettent de classer les souches dans des clones définis selon une épidémiologie mondiale laquelle s'appuie sur une base de donnée mondiale.

## INTRODUCTION PROBLEMATIQUE

---

-Le deuxième objectif de notre étude sera d'étudier la sensibilité de nos souches aux trois familles d'antibiotiques les plus utilisées à l'hôpital à savoir les  $\beta$ -lactamines, aminosides et les quinolones. L'étude phénotypique obtenue après lecture des antibiogrammes, devra être confirmée par une étude génotypique et caractérisation des gènes de résistance.

L'étude génotypique se fera par des techniques de biologie moléculaires PCR, et séquençage pour certains gènes.

Nous essayerons donc à travers notre étude de détecter si un ou plusieurs clones de l'espèce *Acinetobacter baumannii* circulent dans notre structure hospitalière, et quelle en sont leurs antibiotypes.

# REVUE DE LA LITTERATURE

---

# CHAPITRE I

---

# BACTERIOLOGIE

### I. Bactériologie

#### I.1.Taxonomie

La systématique des espèces actuellement placées dans le genre *Acinetobacter* est complexe car ces bactéries ubiquistes ont été isolées indépendamment par de nombreux auteurs et ont été placées dans divers genres (*Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Cytophaga*, *Diplococcus*, *Bacterium*, *Herella*, *Lingelsheimia*, *Mima*, *Micrococcus*, *Moxarella*, *Neisseria*.....) (6).

L'histoire du genre *Acinetobacter* débute au début du XXème siècle avec la description par un microbiologiste néerlandais (Beijerinck 1911) d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* isolé à partir de prélèvements du sol (7).

En 1948, Schraub et Hauber redécouvrent cette bactérie et ils proposent le nom de *Bacterium unitratum* qui sera ensuite modifié en *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica* puis en *Moraxella glucidolytica*.

En 1953, Brisou transfère cette espèce dans le genre *Achromobacter* avec la nomenclature d'*Achromobacter anitratum* (6).

C'est en 1954 que Brisou et Prévost proposent la désignation du genre *Acinetobacter* (du grec *akinetos* : « incapable de bouger ») pour regrouper une collection hétérogène de bactéries immobiles, à Gram négatifs et à réaction d'oxydase positive ou négative. Dans son édition de 1974, le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* listait le genre *Acinetobacter* avec la description d'une seule espèce : *Acinetobacter calcoaceticus* (*A. calcoaceticus*).

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 sont parvenus à distinguer 12 espèces génomiques ou genomic species, certaines étant clairement dénommées comme *A.baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* et *A. lwoffii*.

## CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE

---

Les travaux réalisés par Bouvet et Jeanjean (1989), Tjernberg et Ursing (1989), et Nishimura et coll. (1988) ont abouti à la description d'autres espèces incluant *A. radioresistens*, qui correspond à *A. genomic species 12* décrit par Bouvet et Grimont. Certaines espèces se sont révélées être synonymes comme *A. lwoffii* et *A. genomic species 9* ou *A. genomic species 14* décrit par Bouvet et Jeanjean (14BJ) et *A. genomic species 13* décrit par Tjernberg et Ursing (13TU).

Plus récemment, d'autres espèces bactériennes ont été décrites chez l'homme comme *A. parvus*, *A. schindleri* et *A. ursingii* (8) ou dans l'environnement comme *A. baylyi*, *A. bouvetii*, *A. grimontii*, *A. tjernbergiae*, *A. towneri*, *A. tandoii* et *A. gerner* (9).

A ce jour, 33 espèces bactériennes de *Acinetobacter* ont été décrites, dont 18 ont un nom d'espèce propre (Tableau1). Leur contenu ADN en G+C est compris entre 39 et 47%. Tout dernièrement, de nouvelles espèces d'*Acinetobacter*.sp ont été décrites en pathologie humaine : *A. septicus* sp. Nov. (10), *A. beijerinckii* sp. nov. et *A. gyllenbergii* sp. nov (11), ou dans l'environnement *A. oleivorans* sp.nov (12), *A. rudis* sp. nov. (13), *A. kyonggiensis* sp. nov.(14) , *A. brisouii* sp. nov. (15), *A. venetianus* sp. nov. (16), *A. antiviralis* sp. nov. (17), *A. soli* sp. nov. (18), *A. marinus* sp. nov. et *A. seohaensis* sp. nov. (19). De plus, certains auteurs ont proposé de nommer les espèces ne portant pas de dénomination propre : *A. genomic species 3* (*A. pittii* sp. nov.), *A. genomic species 13TU* (*A. nosocomialis* sp. nov.), *A genomic species 10* (*A. bereziniae* sp. nov.), *A. genomic species 11* (*A. guillouiae* sp. nov.) (20).

Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la famille des *Moraxellaceae* de l'ordre des *Pseudomonadales* au sein de la classe des *Gammaproteobacteria* du phylum des *Protobacteria*. Cette famille regroupe également les genres *Moraxella* et *Psychrobacter*.

Parmi les espèces décrites ci-dessus, l'espèce la plus importante en clinique est l'espèce *baumannii*. En effet, elle représente plus de 90 % des

## CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE

---

isolats cliniques, et a des caractéristiques qui la différencient des autres espèces en particulier en termes de pathogénicité, d'épidémiologie et de résistance aux antibiotiques. En fait, cette espèce est représentée au laboratoire par un groupe de 4 espèces difficilement différenciables car très proches les unes des autres : les espèces *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* sp. 3 (*A. pittii* sp. *novo*) et le groupe génomique 13 T&U (*A. nosocomialis* sp. *novo*) sont donc fréquemment regroupées dans un complexe dénommé *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* **(21)**.

De nombreux laboratoires donnent fréquemment le nom d'*Acinetobacter baumannii* en lieu et place de « *Acinetobacter calcoaceticus baumannii* complex ».

En France et dans de nombreux pays d'Europe, *A. baumannii* et groupe 13 T&U sont les plus représentés dans le complexe suivi par *Acinetobacter* sp.3. Parmi les autres espèces qui représentent un faible pourcentage d'isolats cliniques, *A. haemolyticus* est la plus représentée **(22)**.

## CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE

**Tableau 1. Description des espèces appartenant au genre *Acinetobacter*.**

| Espèce                                       | Genomic species <sup>a</sup>  | Souche de référence     | Lieu d'identification |
|----------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| <i>A. baumannii</i>                          | 2                             | ATCC 19606              | environnement / homme |
| <i>A. baylyi</i>                             |                               | DSM 14961               | environnement         |
| <i>A. bouvetii</i>                           |                               | DSM 14964               | environnement         |
| <i>A. calcoaceticus</i>                      | 1                             | ATCC 23055              | environnement         |
| <i>A. gernerii</i>                           |                               | DSM 14967               | environnement         |
| <i>A. grimontii</i>                          |                               | DSM 14968               | environnement         |
| <i>A. haemolyticus</i>                       | 4                             | ATCC 17906              | environnement / homme |
| <i>A. johnsonii</i>                          | 7                             | ATCC 17909              | environnement / homme |
| <i>A. junii</i>                              | 5                             | ATCC 17908              | homme                 |
| <i>A. lwoffii</i>                            | 8/9                           | ATCC 15309<br>ATCC 9957 | homme                 |
| <i>A. parvus</i>                             |                               | NIPH384                 | homme / chien         |
| <i>A. radioresistens</i>                     | 12                            | IAM 13186 NIPH1034      | environnement / homme |
| <i>A. schindleri</i>                         |                               | DSM 14970               | homme                 |
| <i>A. tandoii</i>                            |                               | DSM 14971               | environnement         |
| <i>A. tjernbergiae</i>                       |                               | DSM 14962 NIPH137       | environnement         |
| <i>A. towneri</i>                            |                               | ATCC 19004              | environnement         |
| <i>A. ursingii</i>                           |                               | ATCC 17979              | homme                 |
| <i>A. pittii</i> sp. nov. <sup>b</sup>       | 3                             | ATCC 17924              | environnement / homme |
|                                              | 6                             |                         |                       |
| <i>A. bereziniae</i> sp. nov. <sup>b</sup>   | 10                            | ATCC 11171              |                       |
| <i>A. guillouiae</i> sp. nov. <sup>b</sup>   | 11                            |                         | environnement / homme |
|                                              | 13TU                          | ATCC 17903              |                       |
|                                              | 13BJ, 14TU                    | ATCC 17905              |                       |
| <i>A. nosocomialis</i> sp. nov. <sup>b</sup> | 14BJ                          | CCUG 14816              | homme                 |
|                                              | 15BJ                          | SEIP 23.78              |                       |
|                                              | 15TU                          | M 151a                  |                       |
|                                              | 16                            | ATCC 17988              |                       |
|                                              | 17                            | SEIP Ac87.314           |                       |
|                                              | Between 1 and 3 Close to 13TU | 10095<br>10090          |                       |

<sup>(a)</sup> Les espèces génomiques (genomic species) sont définies d'après Bouvet et Grimont et Bouvet et Jeanjean.

<sup>(b)</sup> Noms proposés par Nemec et coll. 2011 et 2010 (7).

De nouvelles espèces d'*Acinetobacter* sp ont été décrites : *A. septicus* sp. Nov.(10), *A. beijerinckii* sp.nov. et *A.gyllenbergii* sp.nov. (11) ou dans l'environnement : *A.oleivorans* sp.nov(12) ,*A.rudis* sp.nov. (13), *A.kyonggiensis* sp.nov. (14), *A.brisouii* sp.nov.(15) , *A.venetianus* sp.nov.(16) *A.antiviralis* sp.nov. (17), *A.soli* sp.nov. (18), *A.marinus* sp.nov. et *A. seohaensis* sp.nov (19).

### I.2.Habitat

Les bactéries du genre *Acinetobacter* ont depuis longtemps été considérées comme des bactéries ubiquistes. Elles ont classiquement l'environnement (sol, eaux) pour habitat. Elles représenteraient 0,001 % de la flore hétérotrophe aérobie du sol (23). Elles sont également isolées des effluents, des végétaux, des animaux et des produits alimentaires (produits laitiers, viande, carcasses de poulets éviscérés, et autres produits dérivés de volailles).

Chez l'homme, les *Acinetobacter* sont fréquemment isolés de la peau, de la salive, de l'urine, de la conjonctive et plus particulièrement des localisations humides (aines, fosses antécubitales, creux axillaires, espaces interdigitaux). Ces bactéries font partie de la flore résidente normale (commensales) de la peau saine chez l'homme.

Le bouleversement considérable apporté à la taxonomie des *Acinetobacter* nous oblige à reconsidérer l'écologie de ce genre. L'habitat d'*A.calcoaceticus* sensu stricto semble être presque exclusivement le sol. Exceptionnellement cette espèce peut être associée à des infections humaines (24).

*A.baumannii* n'a jusqu'à maintenant été isolé que de prélèvements humains. *A. baumannii* et le groupe 13 T &U sont dans la majorité des pays les espèces d'*Acinetobacter* les plus fréquemment rencontrées en milieu hospitalier, où elles sont la cause d'un nombre important d'infections nosocomiales (25).

*A. species 3* est occasionnellement trouvé responsable d'infections nosocomiales en France, alors qu'une étude réalisée en Suède plaçait cette

espèce en première position **(24)**. *A. species 3* peut également être isolé à partir du sol.

*A. haemolyticus* peut exceptionnellement être trouvé responsable d'infections nosocomiales. Cette espèce, de même que *A. junii*, peut être isolée à partir de prélèvements cliniques (respectivement 3 à 5 % et 4 à 11 % des isolats cliniques d'*Acinetobacter*) ou à partir de boues activées dans les stations d'épuration.

*A. johnsonii* a été isolé de l'environnement (sol, boues activées, sédiment de rivière), des animaux ou des produits d'origine animale (poulets, lait cru). C'est l'espèce la plus fréquemment isolée des boues activées et elle participe activement à l'élimination des phosphates des eaux usées en les stockant sous forme de poly phosphates **(26)**. Cette espèce semble être un contaminant courant des carcasses de poulets éviscérés, elle est très fréquemment isolée à partir de la peau saine du personnel soignant à l'hôpital mais également de personnes ne fréquentant pas les hôpitaux.

*A. Iwoffii* est isolée de prélèvements cliniques (3 à 23 % des souches d'*A. Iwoffii* selon les études.), mais également des mains d'individus sains, des poulets éviscérés et des boues activées.

*A. radioresistens* isolée à l'origine du coton et du sol est rarement identifiée à partir de prélèvements cliniques **(27)**. Seule une étude suédoise rapporte des taux significatifs (17% des souches d'*Acinetobacter*) de souches d'*A. radioresistens* isolé à partir de prélèvements cliniques **(24)**.

La colonisation de la peau et des muqueuses par les *Acinetobacter* a été recherchée chez 40 patients d'un service de cardiologie et chez 40 témoins sains **(28)**. La colonisation a été démontrée chez 75% des malades et 42,5% des témoins sains. Par ordre décroissant les espèces les plus fréquemment isolées étaient : *A. Iwoffii* (47%), *A. johnsonii* (21%), *A. radioresistens* (12% et uniquement chez les hospitalisés) et *A. species 3* (11 %). Dans cette étude *A. baumannii* et le groupe 13 T& U, ont été rarement isolés (0,5% et 1% respectivement).

## CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE

---

Une étude similaire a montré un taux de portage cutané de 44% chez des patients volontaires sains avec principalement *A. lwoffii* (61%), *A. genomic species 15BJ* (12%), *A. radioresistens* (8%) et *A. genomospecies 3* (5%) **(29)**.

Dijkshoorn et al ont montré un taux de portage fécal de 25% de *Acinetobacter* chez des volontaires sains, principalement *A. johnsonii* et *A. genomic species 11* **(30)**. Paradoxalement, *A. baumannii*, l'espèce la plus fréquemment responsable d'infections nosocomiales au sein du genre *Acinetobacter*, n'a été isolée que très rarement sur la peau (respectivement 0.5% et 3% pour Berlau et coll. 1999 **(29)** et Seifert et coll. 1997 **(31)** et dans les selles humaines (0.8% pour Dijkshoorn et coll. 2005). *Acinetobacter genomic species 13TU*, deuxième espèce d'importance clinique, n'a de même jamais été isolée dans toutes ces études.

Chez les animaux, la flore normale n'a jamais été étudiée systématiquement, bien que *A.baumannii* a été parfois trouvé comme un agent étiologique chez les animaux infectés. En 2001 *A. baumannii* a été isolée de poux de corps collectés sur des personnes sans abri en France, par la suite il a été détecté dans 21% des poux de corps collectés dans différentes parties du monde : en Afrique (Algérie, Burundi et Rwanda), en Europe (France, Portugal et pays -bas) et en Amérique du sud (Pérou). La présence d'*A. baumannii* dans les poux de corps fait sans doute suite à l'ingestion d'un repas sanguin infecté pris d'un patient pendant une bactériémie **(32)**. *A. parvus* a été isolé chez le chien **(33)**.

En Algérie en 2016, des souches d'*Acinetobacter baumannii* hébergeant une oxacillinase 23, faisant partie de clone 2 ST2, ont été isolées sur du poisson pêché en méditerranée (Bejaia) **(34)**.

Dans les végétaux, les espèces les plus fréquemment isolées sont *A. baumannii* et *A. genomic species 11* ainsi que *A. calcoaceticus* et *A. genomic species 3* **(29)**.

Enfin les dernières espèces identifiées (*A. baylyi*, *A. grimontii*, *A. tjenbergiae*, *A. bouvetii*, *A. townneri*, *A. tandoii* et *A. gernerii*) n'ont été isolées

que des milieux environnementaux. Les espèces *ursingii*, *shlinderi* et *parvus* ont été isolées ponctuellement à partir d'isolats cliniques.

L'écologie de ces différentes espèces met en évidence que toute personne peut être porteuse d'un *Acinetobacter* sp. L'isolement d'un *Acinetobacter* autre que *baumannii* à partir du sang ou d'un liquide biologique peut être le résultat d'une contamination et son rôle dans le processus infectieux doit être discuté au même titre que la présence de staphylocoque à coagulase négative **(35)**.

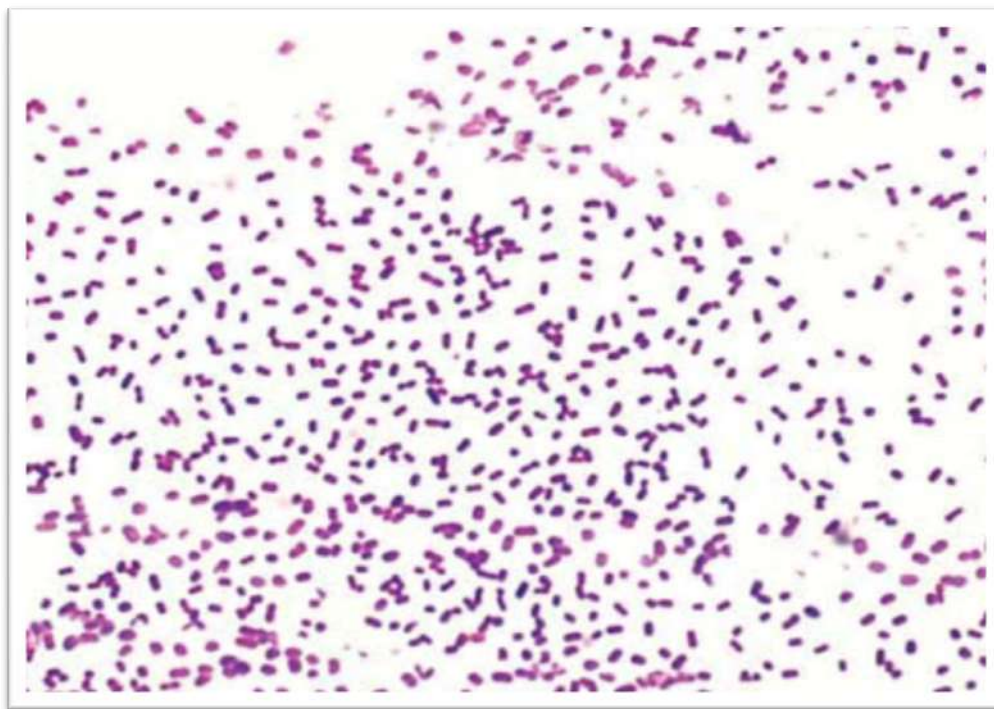
Il faut noter aussi que les souches d'*A.baumannii* isolées de la communauté sont différentes de celles des isolats hospitaliers même s'il s'agit de la même zone, Zeana et al. dans une étude à Manhattan ont comparé la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées de deux hôpitaux avec celles isolées des mains des sujets sains de la communauté, ils ont trouvé qu'il y a une absence de multirésistance des souches communautaires par rapport à 36,6% des isolats des hôpitaux, ce qui suggère que le principal réservoir d'*A. baumannii* multirésistant réside dans l'hôpital **(36)**.

### I.3. Caractères morphologiques

Les *Acinetobacter* sont classiquement décrits comme des diplo-coccobacilles à Gram variable. Ce sont des bacilles courts ou coccobacilles à coloration de Gram négative : ils résistent parfois à la décoloration ce qui les fait paraître Gram douteux (Figure 1). Comme leur nom l'indique, ils sont immobiles (du grec *akinetos*), non sporulés, en générale très polymorphe avec 1 µm de diamètre et dont la longueur varie de 1 µm (forme coccoïde) à 5 µm (forme bacillaire) ou plus (forme filamenteuse), associés en paires ou en courtes chaînettes accompagnés de formes coccoides plus ou moins nombreuses, et qui s'observent surtout à l'examen direct des produits pathologiques en phase exponentielle de croissance.

Bien qu'immobiles, certaines souches peuvent présenter une « twitching motility, sorte de mobilité due à des fimbriae polaires défectueux sur milieu solide.

Trente pour cent des souches d'*A. baumannii* possèdent une capsule, que l'on peut identifier à la coloration de Gram par le halo clair qui entoure la bactérie. (37).



**Figure 1. *Acinetobacter* coccobacille à Gram négatif**  
(ABIS Encyclopedia :*Acinetobacter baumannii*)

### I.4.Caractères cultureux et biochimiques

#### I.4.1. Caractères cultureux

Les *Acinetobacter* cultivent facilement sur gélose ordinaire en 24 heures en donnant des colonies de 2 à 3 mm de diamètre, convexes, arrondies à bords réguliers, souvent translucides. La gélose trypto-caséine soja est le milieu le plus simple et le meilleur pour cultiver ces bactéries. La gélose Mac Conkey ou une gélose à l'éosine-bleu de méthylène peuvent être utiles si l'on veut différencier rapidement les colonies d'*Acinetobacter*.

## CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE

---

Les colonies sont rugueuses (*rough* = *R*) pour *Acinetobacter* sp ou souvent muqueuses (*smooth* = *S*) pour l'espèce *baumannii*, ( dans les prélèvements pathologiques de patient). La production de slime existe chez environ 35 % des souches d'*A. baumannii*.

La température d'incubation est de 35°C pour l'ensemble des *Acinetobacter*, à l'exception d'*A. johnsonii* qui ne cultive qu'en dessous de 35 °C et ne pousse pas à 37 °C. A l'inverse, *A. baumannii* et le groupe 13 TU sont capables de cultiver à 44 °C **(35)**.

### I.4.2. Caractères biochimiques

Les *Acinetobacter* sp sont des bactéries aérobies strictes avec un métabolisme de type respiratoire strict et présentent des réactions de catalase positive et d'oxydase négatives. Ils ne réduisent pas les nitrates en nitrites en milieux complexe (mais possèdent une nitrate réductase en milieu minéral minimum) **(38)**.

La très grande majorité des tests biochimiques habituellement utilisés en bactériologie clinique sont négatifs : nitrate réductase, décarboxylase pour la lysine (LDC), l'ornithine (ODC), thiosulfate réductase (H<sub>2</sub>S) et indole. Un certain nombre de caractères varient suivant les souches, comme par exemple la gélatinase et l'uréase.

Une activité hémolytique (sur les hématies de mouton ou de cheval) est observée dans certaines espèces : *Acinetobacter* sp. 13 à 17. L'hémolyse est plus nette après une incubation de 48 h à 37 °C.

Les caractères biochimiques permettant l'identification des *Acinetobacter* au rang d'espèce sont recensés dans le Tableau 2 remis à jour par Nemec et al. en 2011 **(20)** pour les espèces non protéolytiques ou non hémolytiques.

# CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE

**Tableau 2. Caractères biochimiques d'*Acinetobacter* sp (Nemec et al) (20)**

Phenotypic properties of the members of the *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex and the other *Acinetobacter* species that comprise non-hemolytic and non-proteolytic strains.

| Characteristic             | Gen. sp. 3 (20) | Gen. sp. 13TU (20) | <i>A. baumannii</i> (25) | <i>A. calcoaceticus</i> (11) | *Between 1 and 3* (2) | *Close to 13TU* (2) | <i>A. baylyi</i> (5) | <i>A. bereziniae</i> (16) | <i>A. brouwerii</i> (1) | <i>A. gernerii</i> (1) | <i>A. guillouiae</i> (17) | <i>A. johnsonii</i> (8) | <i>A. junii</i> (4) | <i>A. lawsonii</i> (8) | <i>A. parvus</i> (10) | <i>A. radioreducens</i> (6) | <i>A. schindleri</i> (14) | <i>A. taylorii</i> (1) | <i>A. townsendii</i> (2) | <i>A. urogenitalis</i> (15) | Gen. sp. 15TU (2) |
|----------------------------|-----------------|--------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Growth at:                 |                 |                    |                          |                              |                       |                     |                      |                           |                         |                        |                           |                         |                     |                        |                       |                             |                           |                        |                          |                             |                   |
| 44°C                       | 10              | 95                 | +                        | -                            | -                     | -                   | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| 41°C                       | +               | +                  | +                        | 9                            | +                     | +                   | V                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | V                   | -                      | -                     | +                           | V+                        | -                      | ND                       | -                           | ND                |
| 37°C                       | +               | +                  | +                        | 91                           | +                     | +                   | +                    | +                         | D                       | +                      | V                         | V                       | +                   | +                      | +                     | +                           | +                         | +                      | +                        | V+                          | +                 |
| Acidification of D-glucose | 95              | +                  | +                        | 91                           | +                     | +                   | +                    | V+                        | -                       | +                      | -                         | -                       | -                   | V-                     | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| Utilization of:            |                 |                    |                          |                              |                       |                     |                      |                           |                         |                        |                           |                         |                     |                        |                       |                             |                           |                        |                          |                             |                   |
| trans-Aconitate            | +               | 60                 | 92                       | +                            | +                     | +                   | +                    | V                         | -                       | -                      | V-                        | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| Adipate                    | +               | 95                 | 88                       | +                            | +                     | 50                  | +                    | V                         | -                       | +                      | +                         | -                       | -                   | V+                     | -                     | +                           | V                         | -                      | -                        | +                           | V                 |
| β-Alanine                  | 90              | 85                 | +                        | 91                           | +                     | 50                  | -                    | +                         | -                       | +                      | V+                        | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| 4-Aminobutyrate            | +               | +                  | +                        | +                            | +                     | +                   | +                    | +                         | -                       | +                      | V+                        | V                       | V                   | V+                     | -                     | +                           | -                         | +                      | -                        | -                           | V                 |
| L-Arabinose                | 85              | +                  | 84                       | 27                           | +                     | -                   | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| L-Arginine                 | +               | +                  | +                        | +                            | +                     | +                   | +                    | -                         | -                       | -                      | -                         | V                       | +                   | -                      | -                     | +                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| L-Aspartate                | +               | +                  | +                        | +                            | +                     | +                   | +                    | +                         | -                       | +                      | +                         | V                       | V                   | -                      | -                     | -                           | -                         | +                      | -                        | V+                          | -                 |
| Azelaate                   | +               | 95                 | 88                       | +                            | +                     | 50                  | +                    | V                         | -                       | +                      | +                         | -                       | -                   | +                      | -                     | +                           | V                         | -                      | -                        | +                           | +                 |
| Benzoate                   | 90              | 90                 | 84                       | +                            | +                     | +                   | +                    | +                         | +                       | +                      | V+                        | +                       | +                   | V+                     | -                     | +                           | V+                        | +                      | +                        | V                           | +                 |
| 2,3-Butanediol             | 85              | 90                 | +                        | +                            | +                     | +                   | +                    | +                         | -                       | +                      | +                         | V                       | -                   | -                      | -                     | +                           | V                         | +                      | V                        | -                           | +                 |
| Citronate                  | -               | -                  | 40                       | -                            | -                     | -                   | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| Citrate (Simmons)          | +               | +                  | +                        | 91                           | +                     | +                   | +                    | +                         | +                       | +                      | +                         | V                       | V                   | V-                     | -                     | -                           | V                         | +                      | -                        | +                           | -                 |
| Ethanol                    | +               | +                  | 96                       | 91                           | +                     | +                   | +                    | +                         | +                       | +                      | +                         | +                       | V                   | +                      | +                     | +                           | V+                        | +                      | +                        | +                           | +                 |
| Gentisate                  | 25              | 10                 | 4                        | -                            | +                     | +                   | -                    | -                         | -                       | -                      | V                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | V                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| D-Gluconate                | -               | -                  | -                        | -                            | -                     | -                   | +                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| D-Glucose                  | -               | -                  | -                        | -                            | -                     | -                   | +                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| L-Glutamate                | +               | +                  | +                        | +                            | +                     | +                   | +                    | +                         | +                       | +                      | +                         | +                       | +                   | V-                     | -                     | +                           | ND                        | +                      | V                        | +                           | V                 |
| Glutarate                  | 90              | 95                 | 96                       | 91                           | +                     | +                   | V                    | +                         | +                       | +                      | +                         | -                       | -                   | -                      | -                     | +                           | V+                        | -                      | -                        | V+                          | -                 |
| Histamine                  | -               | -                  | -                        | -                            | -                     | -                   | V                    | -                         | -                       | V                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| L-Histidine                | +               | +                  | 96                       | +                            | +                     | +                   | V+                   | +                         | -                       | V+                     | -                         | V                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| 4-Hydroxybenzoate          | +               | 80                 | 92                       | 91                           | +                     | +                   | +                    | V+                        | -                       | +                      | V+                        | V-                      | -                   | -                      | -                     | -                           | V                         | +                      | -                        | V+                          | -                 |
| DL-Lactate                 | +               | +                  | +                        | +                            | +                     | +                   | +                    | +                         | +                       | +                      | +                         | +                       | +                   | +                      | -                     | +                           | +                         | +                      | +                        | +                           | V                 |
| L-Leucine                  | 95              | 95                 | 88                       | 91                           | +                     | 50                  | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | V                   | -                      | -                     | +                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| Levulinate                 | 5               | 5                  | 24                       | 91                           | 50                    | -                   | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| D-Malate                   | 95              | +                  | 92                       | D                            | +                     | +                   | D                    | V+                        | -                       | -                      | +                         | -                       | V                   | V-                     | -                     | -                           | V+                        | +                      | V                        | V+                          | V                 |
| Malonate                   | 95              | 20                 | 88                       | +                            | +                     | +                   | +                    | -                         | -                       | -                      | V                         | V                       | -                   | -                      | -                     | +                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| L-Ornithine                | 95              | 95                 | 76                       | +                            | +                     | 50                  | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | V-                      | -                   | -                      | V                     | -                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| Phenylacetate              | 75              | 85                 | 84                       | +                            | +                     | +                   | -                    | V                         | -                       | +                      | V                         | -                       | -                   | V+                     | -                     | +                           | -                         | +                      | -                        | -                           | +                 |
| L-Phenylalanine            | 75              | 85                 | 84                       | +                            | +                     | +                   | -                    | -                         | -                       | +                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | V                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| Putrescine                 | +               | 95                 | 96                       | +                            | +                     | 50                  | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | V                           | -                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| D-Ribose                   | 35              | 80                 | 76                       | 45                           | +                     | -                   | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |
| L-Tartrate                 | 85              | -                  | 32                       | 9                            | 50                    | 50                  | -                    | -                         | -                       | -                      | -                         | V                       | -                   | -                      | -                     | -                           | V                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| Tricarballoylate           | +               | 95                 | 92                       | +                            | +                     | +                   | V                    | V                         | -                       | -                      | V-                        | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | V                         | +                      | -                        | -                           | -                 |
| Trigonelline               | 20              | 20                 | 60                       | 9                            | 50                    | -                   | +                    | +                         | -                       | -                      | V                         | -                       | -                   | -                      | -                     | -                           | -                         | -                      | -                        | -                           | -                 |

### I.5. Caractères antigéniques

*Acinetobacter*, germe ubiquitaire, est complexe du point de vue de sa structure antigénique de surface. Plusieurs séries de travaux ont mis en évidence des groupes sérologiques différents. MARCUS en 1969 en utilisant des anticorps marqués à la fluorescéine montre l'existence de 28 sérovars chez les souches ne produisant pas d'acides par oxydation du glucose. ADAM à l'aide d'immuno-sérums préparés avec des bactéries chauffées ou formolées distingue 41 facteurs K (antigènes K chez les souches encapsulées) par agglutination sur lame et 40 groupes O par hémagglutination indirecte. Certaines parentés antigéniques ont été décrites entre le polysaccharide capsulaire de certaines souches d'*Acinetobacter* et les streptocoques B, G, le pneumocoque type 23. De même des réactions croisées s'observent entre des anticorps anti-*Chlamydia* et un antigène soluble non dialysable et thermostable d'*Acinetobacter*. Ils sont dépourvus d'antigènes H (39).

## CHAPITRE II

---

# PATHOGENICITE

### II. Pathogénicité

Le pouvoir pathogène se définit comme l'aptitude de ce germe (*Acinetobacter*) à provoquer des troubles dans un organisme, soit par virulence, soit par toxinogénèse, soit par l'association de ces deux mécanismes **(6)**.

*Acinetobacter* est une bactérie à faible pathogénicité. La DL50 % (injection intra péritonéale chez la souris) varie selon les souches de  $10^6$  à  $10^8$  CFU, elle est proche de celle observée avec certaines entérobactéries ou avec *Pseudomonas aeruginosa* et plus importante que celle observée avec certains aérobies strictes comme *Stenotrophomonas maltophilia* ou *Burkholderia cepacia*.

Les facteurs de virulence sont peu connus chez *Acinetobacter* et les quelques travaux publiés dans la littérature à ce sujet soulignent le rôle potentiel de certains constituants **(35)**. Ainsi Le lipopolysaccharide (LPS) produit par *Acinetobacter* dont un constituant, le lipide A, induit une toxicité létale chez la souris et cette endotoxine est détectée lors de bactériémies à *Acinetobacter*. Il altère aussi l'action bactéricide du complément dans le sérum humain en agissant de façon synergique avec la capsule polysaccharidique.

- ✓ La production d'exopolysaccharides, décrite pour 30% des souches d'*Acinetobacter* **(39)**, protège les bactéries vis-à-vis des défenses de l'hôte.
- ✓ Le quorum-sensing est un mécanisme de régulation largement présent chez les bactéries à Gram négatif et quatre systèmes de quorum-sensing ont été décrits chez *Acinetobacter*. Ces systèmes semblent jouer un rôle d'auto-induction de facteurs de virulence multiples.
- ✓ *Acinetobacter* sp. présente une surface cellulaire de caractère hydrophobe, une caractéristique favorisant son adhérence sur des polymères (cathéters, sondes).
- ✓ Le contact entre la bactérie et les cellules de l'hôte implique des adhésines, des fimbriae ou des polysaccharides **(40)**.

## CHAPITRE II : PATHOGENICITE

---

✓ La production de vérotoxine est associée à des diarrhées sanglantes et a été mise en évidence chez *A. haemolyticus* **(41)**.

✓ Les sidérophores sont des protéines permettant la captation du fer (ou chélateurs du fer) de l'hôte au profit de la bactérie, la possession de telles molécules par les bactéries augmenterait leur virulence.

✓ OmpA est une protéine de membrane externe dont la séquence est très conservée chez *A. radioresistens*, *A. baumannii* et *A. junii* et capable d'induire l'apoptose de cellules épithéliales de l'hôte **(40)**.

✓ L'activité enzymatique de certaines enzymes comme les estérases, les aminopeptidases, les uréases et les phosphatases acides, pourraient aussi jouer un rôle dans la virulence chez *Acinetobacter* sp. **(42)**.

✓ Une étude récente a montré la capacité de *Acinetobacter* sp. à former un biofilm, une structure constituée de cellules bactériennes entourées de polysaccharides **(43)**.

Cette structure permet un échange de matériel génétique entre les bactéries et assure leur survie, notamment dans l'environnement hospitalier. De manière intéressante dans cette étude, il a été noté que ce sont les espèces les plus fréquemment impliquées dans des pathologies cliniques (notamment celles du complexe *A. baumannii*-*A. calcoaceticus*) qui ont la plus grande capacité de former un biofilm, par rapport à d'autres espèces (*A. johnsonii*, *A. lwoffii* et *A. radioresistens*) **(44)**.

✓ La production de slime, présente chez environ 35 % des souches du complexe « *calcoaceticus-baumannii* », augmente la virulence bactérienne d'autres bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) au cours de l'infection **(45)**. Ainsi l'injection simultanée de slime et d'une autre bactérie par voie intra-péritonéale (*E.coli*, *P.aeruginosa*) permet de diminuer la DL50%.

Cette observation possède une pertinence clinique lorsque l'on sait que près de la moitié des infections à *Acinetobacter* sont des infections mixtes

## CHAPITRE II : PATHOGENICITE

---

impliquant *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline **(46)**.

Le slime est élaboré pendant la phase de croissance exponentielle de la bactérie et agit en affaiblissant les fonctions de migration et de phagocytose des polynucléaires neutrophiles.

*A. calcoaceticus* a été associé à l'encéphalopathie spongiforme bovine (BSE) par une équipe anglaise qui prouve que les animaux atteints de BSE ont significativement plus d'anticorps dirigés contre *Acinetobacter* que vis-à-vis d'autres bactéries **(47)**.

## CHAPITRE III

---

### GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### III. Généralités sur les antibiotiques et mécanismes de résistance :

#### III.1. Définition et mode d'action

Les antibiotiques (du grec anti = contre, et bios = la vie) sont des substances produites par des champignons ou des bactéries, par synthèse ou hémi synthèse ayant des propriétés d'inhiber la croissance des bactéries ou de les détruire.

Les antibiotiques sont définis par leur :

- activité antibactérienne (spectre d'activité)
- toxicité sélective (mode d'action)
- activité en milieu organique (Pharmacodynamie)
- bonne absorption et diffusion dans l'organisme(Pharmacocinétique)

#### •Mode d'action :

les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

Ils agissent par :

- ✓ toxicité sélective au niveau : (voir figure 2 ci-après)
  - de la synthèse de la paroi bactérienne
  - de la membrane cytoplasmique
  - de la synthèse des protéines
  - des Acides nucléiques
  
- ✓ Inhibition compétitive : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie **(48)**.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

### Schéma du mode d'action des principales familles d'antibiotiques

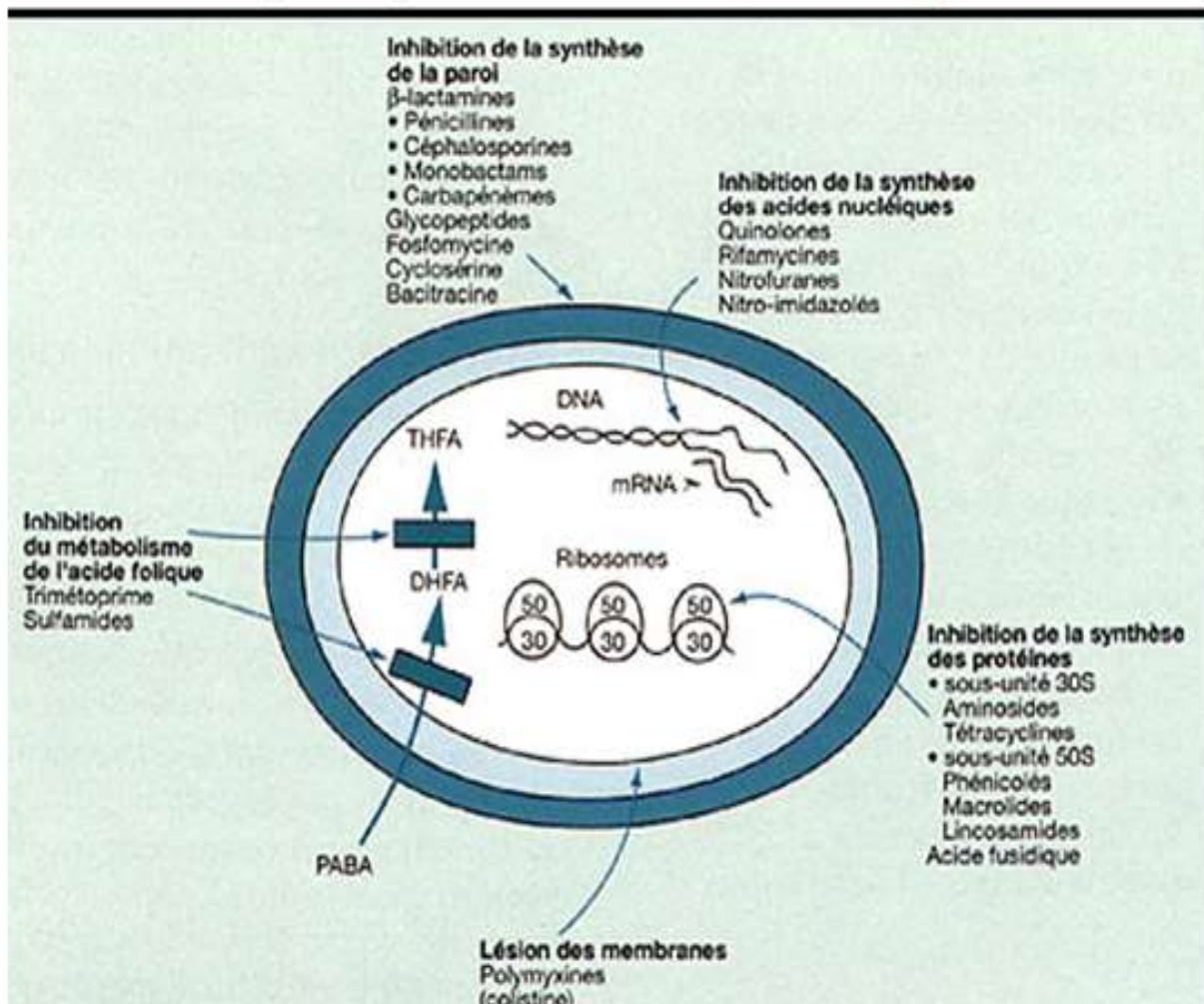


Figure 2. Mécanisme d'action des antibiotiques (Malki samir Revue 2 santé 2013)

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### III.2 .Les familles d'antibiotiques

#### III.2.1. Les $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus importante par le nombre de molécules disponibles et par le volume d'utilisation, aussi bien en ville qu'à l'hôpital. Ces molécules ont la même structure chimique de base : le cycle  $\beta$ -lactame. À partir de ce cycle, quatre sous-familles ont été développées par adjonction de chaînes latérales, les deux premières étant de très loin les plus importantes :

- ✓ **les pénicillines** (ou pénames), dérivées de l'acide-amino-pénicillanique (cycle  $\beta$  lactame+ cycle pentagonal thiazolidine), sont constituées d'un nombre important de molécules dont les principales sont :

- Benzylpénicillines : pénicilline G ;
- Aminopénicillines : ampicilline, amoxicilline ;
- Uréidopénicillines : pipéracilline ;
- Carboxypénicillines : carbénicilline, ticarcilline.

- ✓ **les céphalosporines** (ou céphèmes), se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine. On distingue Cinq générations de céphalosporines. Elles sont classées en fonction de leur date d'apparition, qui correspond à chaque fois à l'acquisition de nouvelles propriétés. En voici quelques exemples:

- Première génération : céfalotine, céfazoline ;
- Deuxième génération : céfamandole, céfuroxime, céfoxitine ;
- Troisième génération : céfotaxime, céftazidime, céftriaxone ;
- Quatrième génération : céfépime, céfpirome ;
- Cinquième génération : céftobiprole.

- ✓ **les carbapénèmes** :

Les carbapénèmes dérivent de la thiénamycine. Leur cycle de base diffère de celui des pénicillines par la présence d'une double liaison et l'absence de soufre endocyclique.

### CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

Quatre molécules sont commercialisées : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème.

Actuellement, l'émergence de  $\beta$ -lactamases de classe D (oxacillinas) possédant un spectre étendu aux carbapénèmes remet en question l'efficacité de ces molécules en clinique. Les carbapénémases de classe D ont surtout été décrites chez *A. baumannii*.

- ✓ **les monobactames** : (aztréonam) sont des  $\beta$ -lactamines monocycliques inactives sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies, et très actives sur les entérobactéries et *P. aeruginosa*. Les monobactames constituent les seules  $\beta$ -lactamines non hydrolysées par les métallobactamases.

En plus de ces 4 groupes, il existe des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases :

- ✓ **les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam) :**

Les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases possèdent une activité antibiotique généralement faible. Ce sont des substrats-suicide qui se lient de manière irréversible à la  $\beta$ -lactamase, empêchant l'action de celle-ci sur les  $\beta$ -lactamines. Ceci explique pourquoi les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases, en particulier l'acide clavulanique et le tazobactam, ne sont généralement pas utilisés seuls, mais en association avec un antibiotique comme l'amoxicilline, la ticarcilline ou la pipéracilline.

Malgré leur intérêt en pratique médicale, les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases ne permettent pas d'inactiver l'ensemble des  $\beta$ -lactamases produites par les bactéries (7).

Le mécanisme commun d'action antibactérienne des antibiotiques de cette famille est fourni par leur capacité à inhiber la synthèse de la paroi bactérienne.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

Le peptidoglycane, un mucopeptide spécifique, est l'un des composants essentiels de la paroi bactérienne. La synthèse et l'attachement du peptidoglycane à la paroi cellulaire bactérienne requièrent de multiples enzymes. Parmi ces enzymes, les PBP (Penicillin Binding Proteins), localisées au niveau de la membrane cytoplasmique, sont impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane et assurent l'activité essentielle de carboxypeptidase, d'endopeptidase ou de transpeptidase.

Les antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines se fixent sur les PBP transpeptidases et inhibent, de ce fait, la transpeptidation et la biosynthèse du peptidoglycane. Les autolysines bactériennes sont alors activées et la mort bactérienne survient, accompagnée souvent par la lyse cellulaire.

Les  $\beta$ -lactamines sont efficaces uniquement chez les bactéries en phase de croissance cellulaire, c'est-à-dire, au moment où la division active des cellules et la biosynthèse de la nouvelle paroi cellulaire ont lieu **(49)**.

### III.2.2. Les aminosides ou aminoglycosides

Les aminoglycosides sont des molécules polaires et polycationiques. Leur structure de base commune comporte un aminocyclitol, auquel se lient par des ponts glycosidiques 2 (ou exceptionnellement 3 dans la néomycine) hexoses **(50)**.

Ils sont divisés en trois classes :

- les déoxystreptamines bisubstituées 4-5 qui comprennent: Néomycine B ou C ;
- les déoxystreptamines bisubstituées 4-6 qui comprennent: Kanamycines A, B, C et dérivés, Amikacine, Tobramycine, Gentamicine, Nétilmicine ;
- les autres : Streptomycine, Streptidine, Spectinomycine.

Les aminosides sont des bases avec une activité antibactérienne optimale en pH alcalin. Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides **(51)**.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### III.2.3. Les Quinolones et les Fluoroquinolones

Les antibiotiques de la famille des quinolones sont des composés de synthèse dont le développement a conduit à deux générations : les quinolones et les fluoroquinolones. La première génération comprend, l'acide nalidixique et l'acide pipémidique. La ciprofloxacine, la norfloxacine, le péfloxacine, etc... sont des antibiotiques appartenant à la deuxième génération.

Les quinolones et les fluoroquinolones agissent par inhibition de la réplication de l'ADN bactérien. La gyrase est une enzyme qui contrôle le repliement et l'enroulement en super hélice de l'ADN durant sa réplication. Les antibiotiques de cette famille se lient sur le complexe ADN-gyrase et inhibent la fonction de cette enzyme avec comme conséquence l'emmêlement de la double hélice durant la réplication des chromosomes bactériens. Ce faisant, ils conduisent à la mort bactérienne **(49)**.

### III.2.4. Les Rifamycines

La rifampicine inhibe spécifiquement l'ARN polymérase bactérienne en formant un complexe avec cette enzyme. Celle-ci comporte des sous unités : deux sous-unités  $\alpha$  établissant le contact avec les facteurs de transcriptions de l'ADN, une sous-unité  $\beta'$  liant l'ADN, une sous-unité  $\beta$  constituant le site actif proprement-dit et un facteur  $\sigma$  n'intervenant que dans l'initiation de la transcription. La rifampicine se lie par des interactions hydrophobes au niveau de son "anse" à la sous unité  $\beta$ , empêchant la transcription de l'ADN en ARNm et entraînant ainsi une réduction de la synthèse protéique **(52)**.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### III.2.5. Phénicolés

A l'heure actuelle, deux molécules sont en usage clinique: le chloramphénicol, réservé à l'usage topique en raison de sa toxicité, et le thiamphénicol. Comme les macrolides et les lincosamides, les phénicolés se fixent à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens. Ils inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du complexe acide aminé - ARNtr à son site de fixation, et donc la réaction de transpeptidation. L'action du chloramphénicol n'est pas tout à fait spécifique, dans la mesure où elle peut également s'exercer dans les cellules de mammifères, et plus spécialement, les cellules souches des cellules sanguines **(52)**.

### III.2.6. Les Tétracyclines et les Glycylcycline

Les tétracyclines doivent leur nom à leur structure tétracyclique commune, sur laquelle viennent se greffer des substituants en position 5, 6, 7. On distinguera les tétracyclines

- de première génération: chlortétracycline, oxytétracycline, tétracycline, déméclocycline ;
- de deuxième génération: doxycycline, minocycline.

Les glycylcyclines sont des dérivés semi-synthétiques des tétracyclines. La tigécycline, est le dérivé 9-tert-butyl-glycylamido- de la minocycline.

Les tétracyclines et glycylcyclines, concentrées dans le cytoplasme bactérien, se lient à la sous-unité 30S des ribosomes et inhibent l'étape de traduction de la synthèse protéique en s'opposant à la liaison du complexe acide aminé - ARNtr au complexe ribosome - ARNm.

Les tétracyclines sont bactériostatiques **(52)**.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### III.2.7.Les polymyxines

Les polymixines, dont la colistine est le représentant le plus connu, sont constituées d'un polypeptide cyclique et d'un acide gras. Par leur extrémité hydrophobe, ces antibiotiques pénètrent à l'intérieur de la membrane et s'incorporent à la couche lipidique alors que l'extrémité hydrophile reste orientée vers l'extérieur. Il en résulte une désorganisation de la structure membranaire et mort de la cellule.

#### III.2.7.1.La colistine

Découverte dans les années 1940, la colistine a été un des premiers antibiotiques doté d'une activité significative vis-à-vis des bactéries à Gram négatif (BGN) et particulièrement envers *Pseudomonas aeruginosa* **(53)**. En raison de sa toxicité rénale présumée, elle a été peu à peu remplacée par d'autres antibiotiques considérés moins toxiques **(54)**. 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 récidivantes par des BGN de résistance croissante.

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

La colistine est un polypeptide cationique constituée d'un décapeptide cyclique lié à un acide gras **(55)**. La colistine naturelle est constituée de nombreux composés qui se distinguent selon l'acide gras et/ou certains acides aminés constitutifs. Les composés majoritaires sont la colistine A et B qui se distinguent uniquement par l'acide gras constitutif **(53)**.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

Ces molécules ont un poids moléculaire relativement élevé et sont chargées positivement avec comme conséquences une diffusion faible dans le milieu d'Agar, entraînant des difficultés de détermination de sensibilité *in vitro*

### ✓ **Mode d'action de la colistine**

Les polymyxines sont des agents cationiques qui se fixent sur la membrane anionique externe de la bactérie produisant un effet détergeant de l'intégrité de cette membrane.

L'activité bactéricide des polymyxines serait due à l'interposition des polymyxines dans les membranes phospholipidiques entre les protéines membranaires et phospholipides membranaires des BGN grâce aux interactions entre charges cationiques des groupements amines et charges anioniques du LPS, puis grâce aux propriétés hydrophobes de l'acide gras **(113)**, 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 **(56)**.

### **III.2.8.Les Sulfamides**

Les sulfamides sont bactériostatiques et ont un spectre d'action large mais sont peu actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*. Leur mode d'action est lié à une inhibition de la dihydroptéroate synthétase en raison d'une analogie structurale avec le PAB (paraminobenzène). L'action des sulfamides est réversible et s'annule en présence d'un excès de PAB ou de certains métabolites terminaux dont la thymidine **(57)**.

### **III.2.9.Triméthoprim**

C'est un analogue stérique du noyau ptéridine de l'acide dihydrofolique. Il inhibe l'action de la dihydrofolate réductase. Son activité est généralement bactériostatique.

L'association sulfamide et triméthoprim au sein du cotrimoxazole est souvent synergique bactéricide, si la souche est sensible aux deux molécules **(58)**.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### **III.3.Rappel sur les mécanismes généraux de la résistance aux antibiotiques**

La résistance aux antibiotiques est le phénomène qui permet à la bactérie de supporter des concentrations d'un antibiotique donné notablement plus élevée que celle que l'on peut atteindre in vivo.

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise.

#### **III.3.1. La Résistance naturelle**

La résistance naturelle concerne toutes les souches d'une espèce bactérienne. Elle détermine un phénotype sauvage. Sur le plan moléculaire, les gènes de résistance naturelle sont d'origine chromosomique. La résistance chromosomique est un caractère permanent qui est transmissible aux cellules filles lors de la réplication bactérienne.

#### **III.3.2.La résistance acquise**

La résistance acquise ne concerne qu'une partie des souches d'une espèce bactérienne. L'acquisition d'un nouveau mécanisme de résistance résulte soit d'une mutation dans un gène chromosomique (dont elle présente les caractéristiques : spécificité, spontanéité, rareté, indépendance, et transmissibilité) soit de l'acquisition d'un gène de résistance par l'intermédiaire de plasmides, de transposons, ou d'intégrons (résistance extra chromosomique) grâce à des processus aussi différents que la conjugaison, la transformation et la transduction. Ce sont là, les mécanismes génétiques de la résistance acquise **(59)**.

#### **III.3.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques :**

Différents mécanismes biochimiques vont conduire à la manifestation de la résistance; quatre types de mécanismes ont été décrits :

- inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- modification de la cible ;
- diminution de la perméabilité membranaire ;
- excrétion de l'antibiotique

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### **III.3.3.1. Inactivation enzymatique**

C'est un mécanisme fréquemment décrit parmi les souches cliniques.

L'inactivation de l'antibiotique est catalysée par des enzymes qui peuvent soit hydrolyser la molécule d'antibiotique (ex :  $\beta$ -lactamines) soit modifier sa structure en substituant de nouveaux groupements chimiques (ex : aminosides).

L'origine des gènes codant ces enzymes peut être intrinsèque (gène naturellement présent sur le chromosome de l'espèce bactérienne) ou extrinsèque (gène transmis à la bactérie par des plasmides ou des éléments génétiques mobiles).

Chez les bactéries à Gram positif, ces enzymes sont excrétées alors que, chez les bactéries à Gram négatif, elles restent localisées dans l'espace péri plasmique.

Les principales familles d'antibiotiques concernées sont les  $\beta$ -lactamines, les aminosides, et les phénicolés.

### **III.3.3.2. Défaut de pénétration de l'antibiotique : diminution de la perméabilité**

Ce mécanisme est lié à la structure de la paroi bactérienne et aux propriétés physicochimiques de l'antibiotique.

Les bacilles à Gram négatif ont une paroi comprenant une membrane externe qui empêche la pénétration des antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, vancomycine) entraînant une résistance naturelle à ces antibiotiques, le plus souvent à bas niveau. Les molécules hydrophiles de faible masse moléculaire peuvent tout de même traverser cette barrière hydrophobe en empruntant des canaux remplis d'eau formées par des protéines transmembranaires appelées porines.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

Une modification qualitative ou quantitative des porines entraîne une diminution de la perméabilité membranaire et, par conséquent, une augmentation du niveau de résistance aux antibiotiques (7).

Les altérations de la membrane cytoplasmique sont plus rarement incriminées dans la résistance aux antibiotiques (ex: les mutants respiratoires résistants aux aminosides par modification des systèmes de transport).

### **III.3.3.3.Efflux de l'antibiotique**

Les systèmes d'efflux sont basés sur une pompe insérée dans la membrane interne de la bactérie et capable d'excréter l'antibiotique hors de celle-ci grâce à un canal présent dans la membrane externe et à une protéine de jonction périplasmique. Cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique et confère généralement des résistances de bas niveau.

Des systèmes d'efflux constitutifs ont été identifiés chez de nombreuses bactéries à Gram négatif. Ces mécanismes d'efflux actif ont été décrits à l'origine chez *E. coli*. Ils s'exercent vis-à-vis de nombreux antibiotiques dont la cible d'action est intracellulaire (quinolones, tétracyclines) et ils sont qualifiés de pompes d'efflux multidrogues.

Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multidrogues peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à une perte des porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques.

Une acquisition de gènes peut être à l'origine de systèmes d'efflux spécifiques qui, contrairement aux systèmes d'efflux multi-drogues, ne permettent que l'exportation de molécules apparentées.

## CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET MECANISMES DE RESISTANCE

---

### III.3.3.4. Modification de la cible de l'antibiotique

Après pénétration cellulaire de l'antibiotique, il existe une étape de reconnaissance de la cible. C'est à ce niveau qu'intervient ce type de résistance. Il s'agit :

- soit d'une résistance naturelle avec la mauvaise affinité de certains antibiotiques pour la cible.

- soit d'une résistance acquise avec modification des cibles et perte d'affinité des antibiotiques pour ces cibles **(60)**.

## CHAPITRE IV

---

# Résistance aux Antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii*

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV. Résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii*.

#### IV.1. Résistance naturelle :

Le genre *Acinetobacter* représente aujourd'hui un modèle d'adaptation particulièrement efficace en termes d'antibiorésistance. En l'espace de 40 ans, *Acinetobacter*, principalement représenté par l'espèce *baumannii*, est passé du statut de « bactérie sans grand intérêt en infectiologie » car peu pathogène et sensible à la plupart des antibiotiques commercialisés à cette époque, à celui de bactérie multi-résistante aux antibiotiques (7).

Dans les années 70, date des premiers travaux consacrés à *A. baumannii*, celui-ci était décrit comme sensible à tous les antibiotiques alors commercialisés à l'exception de la pénicilline.

L'analyse du génome de cette bactérie a modifié le point de vue du bactériologiste. En effet, *Acinetobacter* sp. possède dans son génome un gène codant pour la production d'une  $\beta$ -lactamase de type céphalosporinase. Bien qu'il y ait eu des controverses, à la différence des espèces d'entérobactéries du groupe 3 et de *Pseudomonas aeruginosa*, cette enzyme n'est pas inductible en raison de l'absence d'un régulateur en amont du gène *bla<sub>ampC</sub>* (61).

Plusieurs types de céphalosporinases ont été caractérisés chez *A. baumannii*. Elles sont maintenant appelées ADC (*Acinetobacter*-derived-céphalosporinase) et sont à l'origine de la résistance aux aminopénicillines, à la céfalotine et à la céfoxitine chez l'espèce *baumannii*. Comme les autres enzymes de la classe C, elle n'est pas sensible aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase comme l'acide clavulanique. Elles constituent le mécanisme de résistance le plus fréquent chez l'espèce *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.

Outre cette céphalosporinase, *A. baumannii* possède un gène codant pour une enzyme de classe D ou oxacillinase chromosomique naturelle

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

OXA-51, identifiée comme ubiquitaire dans l'espèce *baumannii* et utilisée comme marqueur d'identification d'espèce. Il existe des variants d'OXA-51 comme OXA-69 et OXA-66 qui sont les plus proches et spécifiques à cette espèce. Le rôle de ces enzymes dans l'expression de la résistance aux antibiotiques est inexistant **(62)**.

Comme *P. aeruginosa*, *A. baumannii* dispose d'un nombre de porines inférieur à celles retrouvées chez *E. coli* et de ce fait, présente une imperméabilité naturelle aux molécules hydrophiles **(63)**.

Cette imperméabilité est associée à une pompe à efflux appartenant au système RND, Ade/IJK, naturellement active vis-à-vis d'un large spectre d'antibiotiques incluant notamment le chloramphénicol et le triméthoprim mais excluant les aminoglycosides. La présence de cette pompe explique les niveaux de CMI d'emblée élevés que l'on retrouve dans cette espèce vis-à-vis de nombreux antibiotiques **(64)**.

*A.baumannii* est également naturellement résistant à l'értapénème, à la fosfomycine, au triméthoprim, à l'acide pipémidique, à la norfloxacin (mais pas à l'acide nalidixique), aux furanes et, est peu sensible à l'aztréonam.

### IV.2.Résistance acquise

L'histoire des *Acinetobacter* est marquée par une évolution impressionnante de la résistance aux antibiotiques en termes de rapidité et de diversité des mécanismes et des matériels génétiques mis en jeu. Dans les années 70, cette bactérie était plus souvent considérée comme un contaminant des prélèvements bactériologiques que comme agent responsable d'infections.

*A. baumannii* a su s'adapter au cours du temps pour devenir une bactérie redoutable par ses capacités de persistance en milieu difficile, ses caractéristiques épidémiogènes et sa multi-résistance aux antibiotiques **(7)**.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV.2.1. Résistances acquises aux $\beta$ -Lactamines chez *A. baumannii*

La résistance aux  $\beta$ -lactamines est dominée par la production de  $\beta$ -lactamases à la fois chromosomiques ou acquises. Le tableau 3 (ci-dessous) indique l'importante variété d'enzymes que cette bactérie peut produire.

#### IV.2.1.1. Rappel sur la classification des $\beta$ -lactamases : classification d'Ambler

Cette classification proposée en 1980 permet de regrouper les  $\beta$ -lactamases en quatre classes en fonction de leurs homologies structurales (65). Les enzymes appartenant aux classes A, C et D selon la classification d'Ambler sont des enzymes à site serine active, celles de la classe B sont des enzymes zinc dépendantes.

Elles sont désignées comme métallo- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ L).

□ **Les  $\beta$ -lactamases de classe A**, ou pénicillinases, constituent le groupe le plus important. Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, pipéracilline) et sont sensibles aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, tazobactam).

□ **Les  $\beta$ -lactamases de classe B**, ou métallo- $\beta$ -lactamases, hydrolysent toutes les  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Ces  $\beta$ -lactamases sont résistantes aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases classiques mais sont inactivées *in vitro* par des agents chélateurs d'ions bivalents comme l'EDTA.

□ **Les  $\beta$ -lactamases de classe C**, ou céphalosporinases, hydrolysent préférentiellement les céphalosporines (céfalotine, ceftazidime, céfuroxime). Elles sont inhibées par la cloxacilline mais pas par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases.

□ **Les  $\beta$ -lactamases de classe D**, ou oxacillinases, constituent un groupe hétérogène.

Elles sont caractérisées par une hydrolyse plus rapide de l'oxacilline et de la cloxacilline que de la benzylpénicilline. Les oxacillinases classiques sont inhibées *in vitro* par le chlorure de sodium.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

### •Mode d'action des $\beta$ -lactamases

Le mécanisme d'hydrolyse se déroule en trois étapes :

- ☐ Liaison non-covalente et réversible entre la  $\beta$ -lactamase et la  $\beta$ -lactamine.
- ☐ Rupture du noyau  $\beta$ -lactame par acétylation covalente avec la sérine du site actif.  
(Formation d'un complexe acyl-enzyme intermédiaire avec les  $\beta$ -lactamines).
- ☐ Intervention d'une molécule d'eau permettant l'hydrolyse de l'acyl-enzyme pour réactiver la  $\beta$ -lactamase et libérer la molécule d'antibiotique inactivée.

### IV.2.1.2. Les $\beta$ -lactamases retrouvées chez *A.baumannii* selon la classification d'Ambler

**Tableau 3.  $\beta$ -lactamases retrouvées chez *A.baumannii* selon la classification d'Ambler.**

| Classification de Ambler                                     | Type d'enzyme                                                                                                      | Spectre d'activité                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CLASSE A<br/>(Sérine <math>\beta</math>-lactamases)</b>   | TEM-1,-2 ; CARB-5<br>SCO-1<br>CTX-M-2,-15 ; TEM-92<br>VEB-1, PER-1 ; SHV-12<br><br>GES-11 ; -14<br>KPC-2,-3,-4,-10 | R aux pénicillines<br>+ C1G*<br>R à toutes $\beta$ -lactamines sauf<br>céphamycines et<br>carbapénèmes<br>R à carbapénèmes et CG3*<br>R à toutes les $\beta$ -lactamines                    |
| <b>CLASSE B<br/>(Métallo- <math>\beta</math>-lactamases)</b> | IMP-1,-2,-4,-5,-6,-11<br>VIM-2,-4 ; SIM-1 ;<br>NDM-2 ; NDM-1                                                       | R à toutes les $\beta$ -lactamines<br>sauf aztréonam                                                                                                                                        |
| <b>CLASSE C<br/>(Sérine <math>\beta</math>-lactamases)</b>   | AmpC<br><br>+ ISAb <sub>a1</sub>                                                                                   | Pas d'expression, non<br>inductible<br>Expression amplifiée de<br>niveau variable,<br>R à ampicillines, C1G, C2G*<br>(bas niveau)<br>R à C3G, pipéracilline +<br>ticarcilline (haut niveau) |
| <b>CLASSE D (Sérine <math>\beta</math>-lactamases)</b>       |                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                             |
| <b>Groupe I</b>                                              | OXA-21<br>OXA-23,-27,-49                                                                                           | R à ampi-ticar-pipéracilline<br>R toutes $\beta$ -lactamines<br>carbapénèmes<br>Incluses                                                                                                    |
| <b>Groupe II</b>                                             | OXA-51,-66,-69                                                                                                     | Pas d'activité apparente<br>(sauf si ISAb <sub>a1</sub> )                                                                                                                                   |
| <b>Groupe III</b>                                            | OXA-24,-25,-26,-37,<br>-40,-72                                                                                     | R à toutes $\beta$ -lactamines<br>carbapénèmes<br>Incluses                                                                                                                                  |
| <b>Groupe IV</b>                                             | OXA-58<br>OXA-143                                                                                                  | R à toutes $\beta$ -lactamines<br>carbapénèmes<br>incluses                                                                                                                                  |

\*C1G, C2G, C3G céphalosporine de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> génération respectivement. R : résistant

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV.2.1.2.1.Pénicillinases :

Elles sont décrites dès le début des années 1980 avec l'identification de la pénicillinase TEM-1 **(66)** puis du variant TEM-2 **(67)**. Une large gamme de pénicillinases, y compris les variants à spectre étroit (TEM-1, TEM-2, CARB-5, et SCO-1), à spectre étendu (TEM-92, TEM-116, SHV-2, SHV -5, SHV-12, CTX-M-2, CTX-M-3, CTX-M-43, PAR-1, PAR-2, PAR-6, VEB-1, VEB-1a, VEB-3, GES -11 et GES-12) et à activité carbapénèmase (GES-14, KPC-2, KPC-3, KPC-4 et KPC-10) a été identifiée principalement chez *A. baumannii*, mais aussi parmi les autres espèces d'*Acinetobacter* **(68)** ; **(69)** ;**(70)**. Cette catégorie de  $\beta$ -lactamase est généralement considérée comme moins répandue chez *Acinetobacter* par rapport aux espèces d'entérobactéries.

### IV.2.1.2.2.Hyperproduction de céphalosporinase :

Les  $\beta$ -lactamases de classe C (céphalosporinases AmpC) sont des enzymes capables, lorsqu'elles sont surexprimées, d'hydrolyser la plupart des pénicillines, la céphalotine, la céfazoline, la céfoxitine, la ceftazidime et l'association des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase/  $\beta$ -lactamines, mais pas le céfépime ou les carbapénèmes **(71)**.

Jusqu'à présent, le gène de la céphalosporinase chromosomiques n'a été identifié que dans quelques espèces d'*Acinetobacter* (*A. baumannii*, *A. pittii* et *A. baylyi*) **(72)** **(71)**. En conséquence, ces enzymes représentent une famille distincte des  $\beta$ -lactamases de classe C appelées *Acinetobacter*-derived cephalosporinases (ADCs). Les gènes *bla*<sub>ADC</sub> à *A. baumannii* sont normalement exprimés à bas niveau. À ce jour, au moins 44 gènes de *bla*<sub>ADC</sub> ont été identifiés**(73)**.

Chronologiquement, la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) liée à la surexpression de céphalosporinases chromosomiques est apparue vers la fin des années 80, peu de temps après l'introduction en thérapeutique de ces molécules.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

On a décrit deux mécanismes à l'origine de cette résistance :

-la présence d'une séquence d'insertion IS*Aba1* en amont du gène *bla<sub>ampC</sub>* est à l'origine d'une surexpression du gène grâce au rôle de promoteur que joue cette séquence en s'insérant à quelques bases seulement du codon d'initiation du gène. Lorsque la céphalosporinase est surexprimée par ce système, la céftazidime est inactivée, comme l'ensemble des C3G **(74) (75)**.

La ticarcilline est la pénicilline la plus stable vis-à-vis de ce mécanisme de résistance. Le sulbactam peut être actif car en plus de sa capacité à inhiber les pénicillinases et un peu les céphalosporinases d'*A.baumannii*, il exerce une activité intrinsèque sur *Acinetobacter* (CMI de l'ordre de 2 mg/l).

Toutefois, cette dernière n'a d'intérêt que sur les souches ticarcilline-intermédiaires non productrices de pénicillinase. (Tableau 4).

- Plus rarement, la résistance est due à l'acquisition d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE). Les plus classiques sont VEB-1 et PER-1.

### IV.2.1.2.3. $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu (BLSE)

L'acquisition d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi ( $\beta$ LSE) est également rare chez cette espèce. Elles sont habituellement d'origine plasmidiques et sont apparues dans les années 90. Les plus classiques sont VEB-1 et PER-1 **(76)**.

L'enzyme VEB-1 a été à l'origine d'une épidémie importante dans le Nord de la France au début des années 2000 et a donné lieu à de nombreux signalements et programmes de lutte visant à empêcher la dissémination à l'ensemble du territoire français.

L'enzyme PER-1 a été largement identifiée dans les souches isolées en Turquie. Depuis, plusieurs variants ont été caractérisés ; parmi eux, PER-7 est un variant dont l'activité hydrolytique vis-à-vis des C3G est bien supérieure **(77)**.

Mais d'autres BLSE plus rares ont été décrites comme SHV-12 **(78)**, SHV-5 **(79)** et SHV-12, TEM-92 **(80)** ou CTX-M-2 **(81)**.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

Les  $\beta$ LSE 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  $\beta$ -lactamines, incluant les carbapénèmes **(82)**. Plus récemment, la BLSE la plus répandue dans le monde, CTX-M-15, a été identifiée chez *A. baumannii* **(83) (84)**.

Comme dans le cas des entérobactéries du groupe 3 ou de *P. aeruginosa*, les images caractéristiques de synergie entre les C3G et les inhibiteurs sont difficiles à observer, voire absentes sur les antibiogrammes. Elles peuvent être objectivées par le rapprochement des disques de C3G et d'inhibiteur et la réalisation de l'antibiogramme sur milieu contenant de la cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase).

**Tableau 4. Phénotypes de résistance chez *A. baumannii* vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines (7).**

| phénotype<br>ATB | 1<br>sauvage | 2<br>Pénicillinase | 3<br>Céphalosporinase | 4<br>(2+3) | 5<br>carbapenème<br>R | 6<br>$\beta$ LSE<br>+ |
|------------------|--------------|--------------------|-----------------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| AMP              | S/I/R        | R                  | R                     | R          | R                     | R                     |
| AMC              | S/I/R        | S/I/R              | R                     | R          | R                     | I/R                   |
| TIC              | S            | R                  | S/I                   | R          | R                     | R                     |
| TCC              | S            | S/I/R              | S/I                   | R          | R                     | I/R                   |
| PIP              | S            | R                  | R                     | R          | R                     | R                     |
| PIP+TAZ          | S            | S/I/R              | S/I                   | I/R        | R                     | I/R                   |
| CTX              | S            | S                  | R                     | R          | R                     | R                     |
| CAZ              | S            | S                  | I/R                   | I/R        | R                     | R                     |
| FEP              | S            | S                  | I/R                   | I/R        | R                     | R                     |
| IPM              | S            | S                  | S                     | S          | I/R                   | S                     |
| MEM              | S            | S                  | S                     | S          | I/R                   | S                     |
| ATM              | S/I          | S/I                | R                     | R          | I/R                   | R                     |

S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV.2.1.3. Résistance acquise aux carbapénèmes : mécanismes enzymatiques.

La résistance aux carbapénèmes 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*.

Les mécanismes enzymatiques sont des mécanismes de résistance aux carbapénèmes les plus fréquents chez *A. baumannii*. Les mécanismes concernés par cette résistance sont liés le plus souvent à l'acquisition d'enzymes à propriétés de carbapénémases et ayant été caractérisées dans les quatre classes moléculaires de  $\beta$ -lactamases :

#### IV.2.1.3.1. Oxacillinases à propriété Carbapénémase :

Appelées oxacillinases ont la capacité d'hydrolyser de manière significative les aminopénicillines (l'ampicilline et l'amoxicilline) et les carboxypénicillines (carbénicilline et ticarcilline) (85).

Les  $\beta$ -lactamases de classe D ne sont pas inhibées (à part de très rares exceptions) par l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam, cependant leur activité peut être inhibée *in vitro* par le chlorure de sodium (NaCl). Cette propriété n'est pas partagée par les  $\beta$ -lactamases des autres classes, ce qui est une bonne caractéristique pour leur identification *in vitro*.

- ✓ Certains variants de ces  $\beta$ -lactamases ont également la capacité d'hydrolyser les céphalosporines à spectre étendu tandis que d'autres, décrits comme oxacillinase à activité de carbapénémase (Carbapenem Hydrolysing class D  $\beta$ -Lactamases) sont capables d'hydrolyser les carbapénèmes.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

C'est parmi la classe D des oxacillinasés que l'on trouve le nombre le plus important d'enzymes impliquées dans la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii*.

Les oxacillinasés peuvent conférer une résistance à toutes les  $\beta$ -lactamines. Cette classe d'enzymes est par ailleurs très hétérogène comme en témoigne les dendrogrammes représentés sur les figures 3 et 11.

Chez *A. baumannii*, en dehors de l'OXA-21 qui n'hydrolyse ni les C3G, ni les carbapénèmes, les enzymes de la classe D qui ont été caractérisées sont généralement des oxacillinasés à large spectre, touchant souvent les carbapénèmes **(7)**.

La plupart de ces enzymes ont été décrites chez *A. baumannii*. Les gènes codant ces enzymes ont un support chromosomique **(62)** ou plasmidique **(86)** et sont souvent associés à des intégrons de classe 1 ou à des séquences d'insertion.

Elles peuvent être divisées en quatre sous-groupes phylogénétiques (*bla*OXA-23-like, *bla*OXA-24-like, *bla*OXA-51-like et *bla*OXA-58-like). Les variants au sein de chacun des quatre sous-groupes principaux ont une identité en acides aminés de  $\geq 96\%$ . Les sous-groupes *bla*OXA-51-like, *bla*OXA-23 et le variant *bla*OXA-134 sont intrinsèquement présents dans *A.baumannii*, *A.radioresistans* et *A. lwoffii*, respectivement **(87) (88) (84) (7)**.

En effet, la première oxacillinasé, OXA-23 (ARI-1), a été observée dès 1985, publiée en 1993 et a diffusé dans le monde entier avant même l'utilisation des carbapénèmes. Depuis, les quatre groupes d'oxacillinasés ont été identifiés chez *A. baumannii* (tableau 3) :

- le groupe 1 est représenté par les enzymes OXA-23 ou 23 « like ».
- le groupe 2 ou OXA-24 « like » présente les plus fortes activités enzymatiques.
- le groupe 3 ou OXA 51/69 « like » correspond à des enzymes produits à partir de gènes chromosomiques, naturellement peu contributifs à la

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

résistance bactérienne sauf en cas de présence d'une séquence d'insertion en amont du gène.

- le groupe 4 ou OXA-58 « like » décrit depuis 2003, est retrouvé relativement fréquemment dans des souches épidémiques Françaises et Européennes.

Deux nouvelles enzymes OXA-143 et OXA-235 ont été caractérisées :

l'oxacillinase 143 dans des isolats brésiliens en 2004 **(89)** dont le profil de substrat est particulier car cette enzyme inactive préférentiellement les pénicillines et les carbapénèmes mais pas les C3G, ainsi que l'oxacillinase 235 laquelle a été mise en évidence aux Etats–unis en 2013 **(90)**.

### IV.2.1.3.1.1.Le sous-groupe OXA -23

OXA-23, à l'origine appelée ARI-1 pour " *Acinetobacter* resistant imipenem ", elle a été identifiée en Ecosse en 1985 et isolée à partir d'un plasmide d'une souche d'*A.baumannii*, qui possédait une CMI de l'imipénème de 16µg/ ml **(91) (92)**.

OXA-23 partage 99% d'identité en acides aminés avec OXA-27, qui a été mise en évidence à Singapour **(93)**. Le gène a été identifié dans de nombreux pays à travers le monde, il est intrinsèquement présent et situé sur le chromosome chez *A.radioresistens* alors qu'il est acquis et porté par un plasmide chez *A. baumannii*. Il a été trouvé uniquement chez l'espèce *Acinetobacter* à l'exception de *Proteus mirabilis* **(94)**. La figure 20 indique la répartition mondiale des oxacillinases 23 en 2011 **(7)**.

### IV.2.1.3.1.2.Le sous groupe OXA-40 (OXA-24)

OXA-40 est une  $\beta$ -lactamase qui a une capacité d'hydrolyser principalement les pénicillines et beaucoup moins les céphalosporines et l'imipénème. Elle est résistante à l'inhibition par l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam **(95)(93)(96)** et aussi au NaCl, contrairement aux autres oxacillinases. Appelée précédemment OXA-24, elle a été identifiée en Espagne chez des souches

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

d'*A.baumannii* résistantes aux carbapénèmes et elle présente 63% et 60% d'identité en acides aminés avec OXA-51/69 et OXA-23 respectivement. Ce groupe comprend aussi les variants OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-33, OXA-72 OXA-139 et OXA-160 **(97)**.

Le gène OXA-40 a été trouvé chez plusieurs espèces d'*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, il peut être chromosomique ou plasmidique **(98)(99)**.

L'enzyme a été décrite en Espagne et en Asie **(100)**, **(101)** mais la péninsule ibérique détient la plus grande prévalence pour la diffusion d'OXA-40 **(100)** **(102)**.

Les OXA-25 et OXA-26 sont des mutants ponctuels d'OXA-40, ces enzymes ont été caractérisées à partir d'isolats d'*A. baumannii* en provenance d'Espagne et de Belgique **(93)**. OXA-72 a été identifiée dans des isolats d'*A. baumannii* de Chine **(103)**, Corée du Sud **(104)**, Taiwan **(105)** et Iran **(106)**. OXA-160, un nouveau variant d'OXA-40, a récemment été identifié dans une souche d'*A. baumannii* isolée aux Etats-Unis **(107)**.

En Afrique, les premières souches d'*A.baumannii* produisant les oxacillinasés 23 ont été décrites en Afrique du sud, Libye et Egypte en 2009 **(108)**.

Plusieurs études Algériennes décrivent dès 2013 la présence d'oxacillinasés 23 et 24 au centre notamment à Alger, Tizi-Ouzou, Sétif, à l'Est (Annaba) et à l'Ouest dans une étude multicentrique de souches collectées dans les hôpitaux (Oran, Tlemcen et Sidi-Bel-Abbès) (sur des souches isolées à partir de 2010) **(109)**.

Cinq souches parmi les souches de Sétif hébergeaient une oxacillinasé 72 laquelle fait parti du groupe oxacillinasé 24 ou 40.

Ce sont les premiers cas décrits en Afrique du Nord, deux souches hébergeaient en même temps les deux oxacillinasés 23 et 72, **(110)** **(111)** **(108)**.

Récemment, deux nouvelles carbapénémases, OXA-143 et OXA-182 ont été identifiées. OXA-182 partage 93% d'identité en acides aminés avec OXA-143

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

et 89% avec OXA-40 (151). La carbapénémase OXA-143 partage 88% d'identité en acides aminés avec OXA-40, 63% avec OXA-23 et 52% avec OXA-58 **(89)**.

### IV.2.1.3.1.3. Le sous groupe OXA-51

OXA-51 est une  $\beta$ -lactamase qui est intrinsèque et ubiquitaire chez *A.baumannii* **(87) (112) (113)**. La première description d'OXA-51, a été faite en 2005 dans des souches isolées en Argentine en 1996 **(87)** et un grand nombre de variants d'enzymes ont depuis été découverts. OXA-51 présente moins de 63% d'identité en acides aminés avec les sous-groupes 1 (OXA-23-like), sous-groupe 2 (OXA-40-like) et moins de 50% avec le sous-groupe 4 (OXA-58-like). Les enzymes OXA-51-like représentent actuellement l'un des plus grands groupes de  $\beta$ -lactamases, avec 81 enzymes actuellement identifiées, elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactam et leur activité est inhibée par le NaCl **(114)**.

Le gène OXA-51 a initialement été identifié sur un support chromosomique et est non-transférable. Cependant, de récentes études et analyses par PCR pour *bla*<sub>OXA-51</sub> indiquent que le gène est localisé sur un plasmide **(115)**.

Les gènes du sous groupe OXA-51 identifiés chez *A.baumannii* à l'exception d'OXA-138, ont été identifiés aussi chez *A.nosocomialis* dans des souches isolées à Taiwan, suggérant que ces gènes peuvent être transférés entre les espèces du complexe *A.baumannii-calcoaceticus*.

Certains auteurs ont évoqué la possibilité d'une surexpression de l'oxacillinase naturelle d'*A.baumannii* (OXA-51 et ses variants) par insertion d'*ISAbal* en amont du gène codant pour cette  $\beta$ -lactamase. Cependant, la réelle contribution de la structure *ISAbal*-gène de type *bla*<sub>OXA-51</sub> à la résistance aux carbapénèmes chez *A.baumannii* fait débat puisque cette structure a été identifiée dans des souches d'*A.baumannii* résistantes et sensibles aux carbapénèmes **(116)**.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV.2.1.3.1.4. Le sous groupe OXA-58

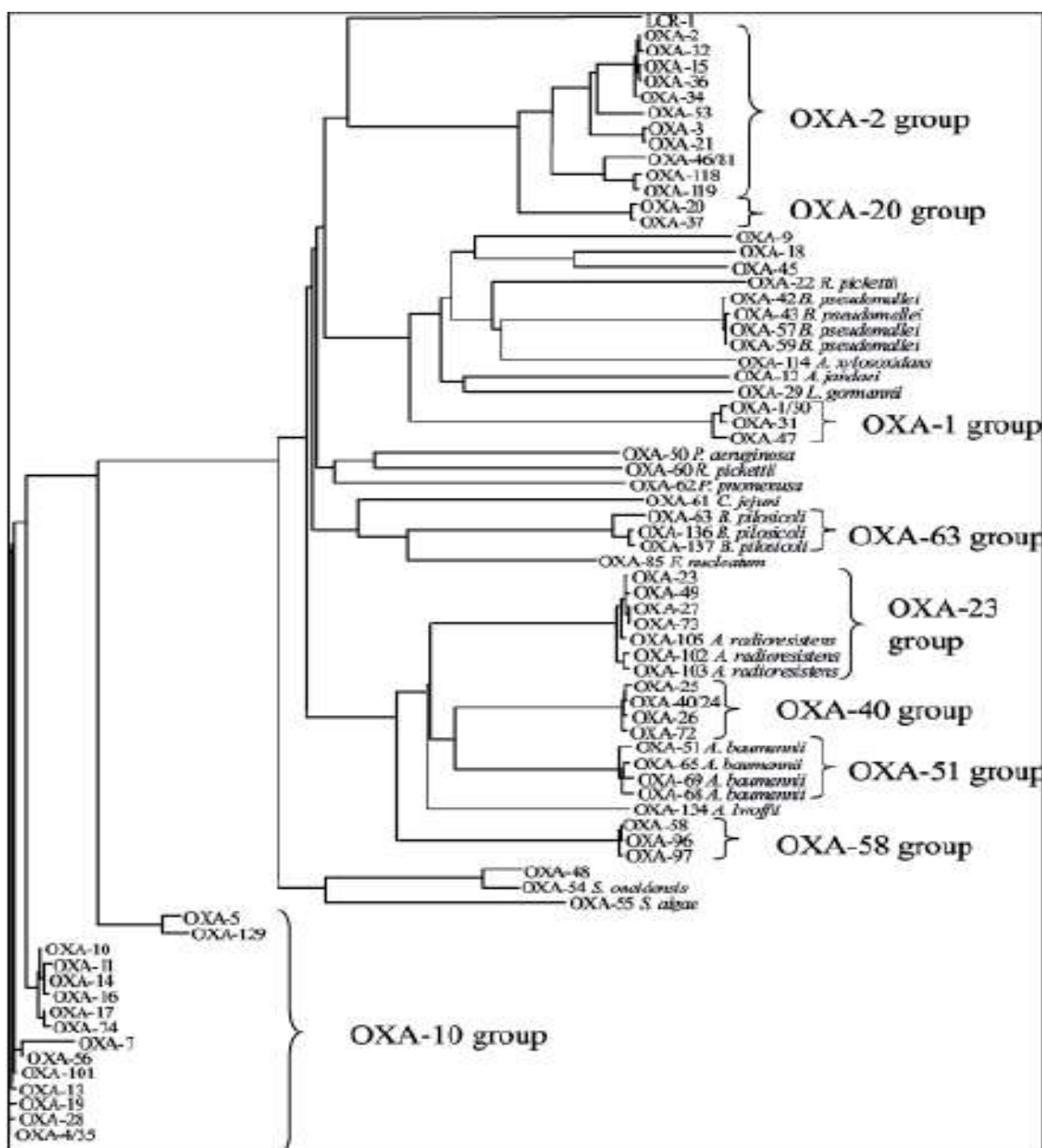
Le gène *bla*<sub>OXA-58</sub> a été identifié pour la première en France à partir d'une souche isolée à Toulouse (France) en 2003 **(117) (118)** . L'enzyme hydrolyse les pénicillines, l'oxacilline mais pas les céphalosporines à spectre étendu, et elle hydrolyse l'imipénème deux fois plus efficacement que l'OXA-40.

L'OXA-58 possède un faible pourcentage d'identité en acides aminés avec les autres oxacillinases. Les gènes codant pour OXA-58 ont été trouvés chez de nombreuses espèces d'*Acinetobacter* et sont généralement portés par un plasmide, bien que la localisation chromosomique a également été décrite **(119);(120)**. Les isolats portant ce groupe de gènes sont les plus fréquemment rapportés en Europe même s'ils ont été rapportés aussi en Amérique, Asie et en Australie **(120) (121) (122)(123) (124) (125)**.

Des associations d'oxacillinases sont décrites dans le monde tel que l'oxacillinase 23 et 58 en Chine et oxacillinase 23, 24 et 58 en Thaïlande **(106)**.

En 2010 des oxacillinases 58 sont décrites chez 12 souches cliniques isolées à Tlemcen en 2008, **(108)**, de même des oxacillinases 58 sont isolées et décrites en 2012 dans l'étude multicentrique de l'Ouest Algérien citée ci-dessus.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII



**Figure 3. Diversité des  $\beta$ -lactamases de classe D.**

Dendrogramme de 73  $\beta$ -lactamases de classe D (Poirel et al. 2010) (117)

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV.2.1.3.2.Métallo- $\beta$ -Lactamases (MBL)

Métallo- $\beta$ -lactamases, MBL confèrent des niveaux de résistance élevés aux carbapénèmes ainsi qu'à toutes les autres  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'aztréonam **(126)**.

Elles ne sont pas inactivées par les inhibiteurs classiques des  $\beta$ -lactamases, mais sont inhibées in vitro par l'EDTA.

Les MBL sont caractérisées par la sensibilité à l'EDTA due à l'exigence des ions de zinc ( $Zn^{2+}$ ) qui se trouvent dans le site actif de l'enzyme **(126)**.

Au moins 9 types différents de MBL acquises ont été décrits à ce jour. Les déterminants les plus importants sont les dérivés de type IMP, VIM, SPM et NDM.

Plusieurs variants d'IMP (IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-8, IMP-11) et de VIM (VIM-1, VIM-2, VIM-4 et VIM-11) ont été détectés parmi les isolats du complexe *A. baumannii* - *A. calcoaceticus* **(106) (127) (128)**.

SIM -1 a été décrite pour la première fois dans des isolats d'*A. baumannii* en Corée.

Les niveaux de résistance aux carbapénèmes conférés par SIM-1 sont inférieurs par rapport à ceux conférés par IMP et VIM **(105)**.

Tous les différents variants de  $bla_{IMP}$ ,  $bla_{VIM}$ , et  $bla_{SIM}$  chez *A. baumannii* ont été trouvés sur des intégrons de classe 1 **(105)**.

Un des derniers déterminants décrits, NDM-1 (New-Delhi Métallo- $\beta$ -Lactamase), a notamment largement été médiatisé et son importante capacité de dissémination cause un réel problème de santé publique **(129)**.

Cette métallo- $\beta$ -lactamase a été récemment trouvée dans les isolats des entérobactéries, particulièrement dans le sous-continent indien ainsi que dans d'autres pays du monde, mais a rapidement été détectée chez *A. baumannii* **(130)**.

NDM-2, un variant de NDM- 1 a récemment été trouvé dans des souches d'*A. baumannii* chez une patiente en Allemagne venant de l'Egypte **(131)**.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

En Algérie le premier cas est décrit en 2012, à partir d'une souche isolée en 2011 chez un patient transféré d'un hôpital oranais, vers l'hôpital Kremlin Bicêtre (France) sur la souche baptisée Ora1. L'étude minutieuse du génome a révélé que le gène NDM1 est un gène autochtone différent du gène isolé pour la première fois chez un patient indien **(132)**.

En effet cette étude suggère que l'apparition des gènes NDM1 en Algérie, est antérieure au gène découvert en 2008 et serait l'ancêtre du gène. De même une souche d'Algérie, NDM1 est isolée en Belgique en 2011 **(133)**.

Les deux souches, isolées en France et en Belgique, portent le gène NDM1 au niveau chromosomique, précédés tous deux par la séquence d'insertion *Isba125*, mais chacune d'elles présente un variant de l'oxacillinase intrinsèque 51 différent à savoir oxa 94 et oxa 64 respectivement, ce qui les classe dans deux clones internationaux différents.

En 2012 plusieurs souches NDM1 sont décrites dans l'Ouest Algérien dans le cadre d'une étude multicentrique sur des souches collectées dans plusieurs hôpitaux de l'ouest puis au centre **(109) (111)**. L'étude de l'Ouest indique qu'il s'agit de souches autochtones.

En 2014, est décrite en Algérie, une souche NDM1, hébergeant également une méthylase ArmA, premier cas décrit **(134)**.

### **IV.2.1.3.3. Carbapénémases appartenant au groupe A d'Ambler :**

Parmi la classe A de Ambler, différentes enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes ont pu être identifiées chez *A. baumannii* : c'est le cas des enzymes GES-11 ou GES-14 ou encore des enzymes de type KPC (pour « *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase ») qui comprennent plusieurs variants (KPC-2, -3, -4, -10) **(82)**. Ces dernières sont beaucoup plus rares chez *Acinetobacter* que chez les entérobactéries, en particulier *Klebsiella pneumoniae* et sont difficiles à détecter sur l'antibiogramme. Elles sont

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

inhibées par l'acide boronique qui est maintenant accessible aux laboratoires de routine sous forme de disque.

### **IV.2.1.4.Résistance aux carbapénèmes : mécanismes non enzymatique**

Ces mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* sont moins fréquents que les mécanismes enzymatiques mais ils font l'objet d'un nombre croissant de publications. De plus, les mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques peuvent être associés dans une même souche d'*A. baumannii*.

#### **IV.2.1.4.1.Diminution de la perméabilité membranaire :**

Des modifications de la perméabilité membranaire d'*A.baumannii* peuvent entraîner une résistance aux carbapénèmes.

Une étude récente rapporte une grande diversité des séquences du gène *carO* gène codant pour un canal protéique de la membrane externe au sein d'une population d'*A. baumannii* isolés en Argentine en rapport avec un transfert horizontal de gène. Cet échange de variants de *carO* pourrait représenter une stratégie au sein de la population d'*A. baumannii* étudiée afin de survivre dans différentes conditions environnementales (135).

Il est également à noter qu'il existe beaucoup moins de porines chez *A. baumannii* que chez *Escherichia coli*, ce qui rend *Acinetobacter* 100 fois moins perméable qu'*Escherichia coli*.

#### **IV.2.1.4.2.Efflux**

La réduction d'activité des antibiotiques peut également reposer sur la capacité des bactéries à les sécréter grâce à leurs pompes à efflux. Ce mécanisme à l'origine de multirésistance aux antibiotiques chez *A. baumannii* est d'ailleurs de plus en plus étudié.

Chez *Acinetobacter*, les pompes à efflux ont été mises en évidence assez tardivement et ne représentent pas comme chez *P. aeruginosa* un mécanisme aussi important dans la résistance aux antibiotiques. C'est le séquençage du génome qui a mis en évidence la présence de gènes d'efflux actifs. Il existe chez *Acinetobacter* plus de 40 types de pompe (MFS, MATE,

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

SMR, ABC). Parmi elles, 3 pompes RND et 2 pompes MFS ont été impliquées dans l'efflux d'antibiotiques. (Tableau 5)

Les pompes RND (« résistance nodulation cell division ») sont des systèmes à trois composants, utilisant le gradient de protons comme source d'énergie.

- La pompe AdeABC est retrouvée chez 80 % des souches d'*A. baumannii*. La surexpression de la pompe est impliquée dans la diminution de la sensibilité aux bêta-lactamines, aux aminoglycosides, aux fluoroquinolones, aux tétracyclines, à la tigécycline et au chloramphénicol.

- La deuxième pompe AdeIJK est présente de façon permanente chez *A. baumannii* et est impliquée dans la résistance intrinsèque, à bas niveau, aux antibiotiques à l'exclusion des aminosides. A ce jour, aucun mécanisme de surexpression n'a été mis en évidence mais un mécanisme de synergie avec AdeABC a été mis en évidence.

- La troisième pompe AdeFGH peut se surexprimer grâce à la présence d'une mutation dans son gène régulateur transcriptionnel situé en amont du gène et touche alors les fluoroquinolones, la tigécycline et la clindamycine.

Les pompes d'efflux de types MFS (major facilitator superfamily) peuvent jouer un rôle dans la résistance aux tétracyclines ou au chloramphénicol. La plupart des gènes codant pour ces pompes sont retrouvés sur des plasmides.

### IV.2.1.4.3.Modification de PLP :

Il existe peu de travaux sur les protéines liant les pénicillines (PLP) chez *Acinetobacter*. Sept PLP ont à ce jour été identifiées dans l'espèce *baumannii* PLP1a, PLP1b, PLP2, PLP3, PLP5/6, PLP6b, et PLP7/8. Seule la PBP6b a été mise en cause dans une souche présentant une résistance aux carbapénèmes et il semblerait que se soit la régulation de l'expression des PLPs qui est à l'origine d'une diminution de sensibilité aux carbapénèmes.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

**Tableau 5. Autres mécanismes de résistance pouvant être impliqués dans la résistance d'*A. baumannii* aux carbapénèmes.**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>I – Perte de porine</b> : augmentation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des carbapénèmes<br>Porine Car O (29 RDa)                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>II – Système d'efflux</b><br><b>RND Système</b><br>Ade ABC<br>Résistance bas niveau intrinsèque à spectre large :<br>sa surexpression touche la tigécycline, le céfépime et les carbapénèmes.<br>Ade FGH<br>Sa surexpression touche les fluoroquinolones et la tygécycline.<br>Ade IJK<br>Résistance bas niveau intrinsèque à spectre large à l'exclusion des aminosides. |
| <b>III – PBPS 1a, 1b, 1c 2, 3, 4 et 5 présentes chez <i>Acinetobacter</i>.</b><br>La diminution de la PBP2 entraîne une augmentation des CMI des carbapénèmes.                                                                                                                                                                                                               |

Samy Figueiredo. *Acinetobacter* sp. et réservoir de gènes de carbapénémases 2011. Human health and pathology. Université Paris Sud - Paris XI, 2011 (7).

### IV.2.2. Supports Génétiques de la résistance chez *A. baumannii*.

Plus de 80% des isolats d'*Acinetobacter* sp. portent des plasmides de taille variables. Les gènes portés par les plasmides sont principalement des gènes de  $\beta$ -lactamases des classes A, B et D de Ambler, mais également des gènes de résistance aux aminosides, ou encore des gènes de résistance au triméthoprim.

Les déterminants génétiques transposables chez *A. baumannii* peuvent être des gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, aux aminosides, à la tétracycline et au chloramphénicol.

L'un des mécanismes qui favorise le plus la multi-résistance chez *A. baumannii* est la capture et l'expression des gènes de résistance sous forme de cassettes au sein des intégrons. Cette structure génétique d'intégron favorise la co-sélection et la co-expression des gènes de résistance. Ainsi, au sein d'un intégron peuvent être associés des gènes différents de

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

$\beta$ -lactamases, des gènes de résistance aux aminosides, à la rifampicine et au chloramphénicol. Il existe plusieurs classes d'intégrons définies en fonction de la nature des gènes codant pour une intégrase, mais les intégrons de classe 1 sont les plus fréquents chez *A. baumannii*. Des intégrons de classe 2 ont également été décrits chez *A. baumannii*.

### IV.2.2.1. La résistance chromosomique

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 **(136)**.

Des céphalosporinases codées par le gène *AmpC* présentant des modifications structurales, par mutations ou délétions de nucléotides, ont été décrites **(137)**.

Ces enzymes peuvent être hyperproduites, par modification de leur régulation **(138)**. Les gènes codant pour ces enzymes ont également été observés sur des plasmides : *AmpC* plasmidique **(139)**.

### IV.2.2.2. La résistance extra-chromosomique

#### IV.2.2.2.1. 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 **(106)**.

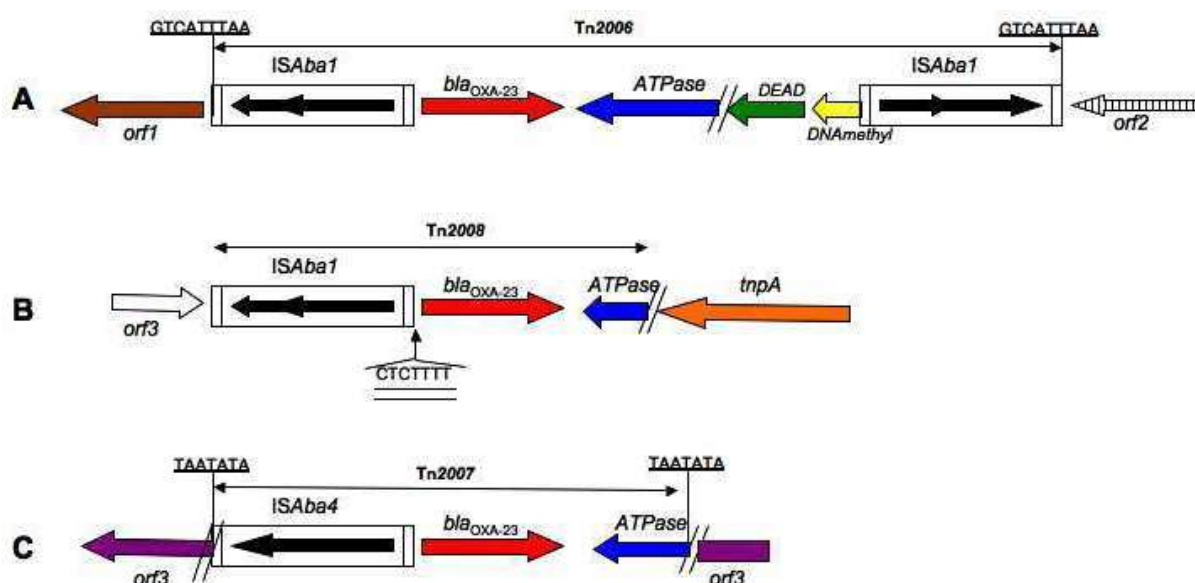
Ces structures sont très répandues dans le genre *Acinetobacter* **(140)**. Elles ne constituent pas elles-mêmes un support de la résistance aux antibiotiques, mais sont susceptibles d'interférer dans la régulation de certains mécanismes qui y sont impliqués.

*ISAba1* est une séquence d'insertion qui apporte une séquence promotrice importante et donc une surexpression de certains gènes intrinsèques (*bla<sub>ADC</sub>* et *bla<sub>OXA-51-like</sub>*) ou acquis (*bla<sub>OXA-23-like</sub>*) d'*A. baumannii* **(62) (141)**.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

*ISAb1* 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 **(142)(141)**.

*ISAb2*, *ISAb3*, *IS18*, et *ISAb825* pourraient également fournir de forts promoteurs pour *bla*<sub>OXA-58-like</sub> (alors qu'une seule copie d'*ISAb4* associée au gène *bla*<sub>OXA-23</sub> au sein du transposon Tn2007 peut également être responsable de la surexpression et pourrait permettre la mobilisation du gène **(142)**).



**Figure 4. Transposons associés au gène *bla*<sub>OXA-23</sub> chez *A. baumannii*.**

Samy Figueiredo. *Acinetobacter* spp. et réservoir de gènes de carbapénémases. Human health and pathology. Université Paris Sud - Paris XI, 2011**(7)**.

(A) Tn2006, (B) Tn2008, (C) Tn2007.

La présence de deux séquences d'insertion *ISAb1* en amont et en aval du gène *oxa 23* au sein d'un intégron composite Tn2006 expliquerait sa mobilité et donc sa large diffusion et association à d'autres gènes.

Une analyse de séquence de l'environnement génétique de *bla*<sub>NDM-1</sub> chez une souche d'*A. baumannii* isolée en Allemagne a révélé la localisation chromosomique de *bla*<sub>NDM-1</sub> de 10.5 kb flanquée entre deux copies d'*ISAb125* **(143)**. Retrouvé également sur les deux souches isolées d'Algérie en France et en Belgique **(133) (132)**.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

De plus, IS*Aba825* et IS*Aba125* ont été trouvées 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* **(144)**.

### IV.2.2.2.2.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.

Les transposons les plus connus sont les transposons composés, Tn5, Tn9 et Tn10, connus pour les gènes de résistance aux antibiotiques qu'ils portent et ont été retrouvés sur les plasmides de plusieurs souches cliniques. **(143)**

### IV.2.2.2.3.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 **(145)**. 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

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IV.2.3. Résistance acquise aux aminosides chez *A. baumannii* :

Depuis 1995, 80% des souches d'*A. baumannii* isolées en Europe ainsi qu'aux Etats-Unis sont résistantes à au moins un des quatre principaux aminosides utilisés en pratique médicale (gentamicine, tobramycine, amikacine, netilmicine) **(146)**.

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

Les trois types d'enzymes inactivant les aminosides ont été décrits chez *A. baumannii* : aminoside acétyltransférase AAC, aminoside nucléotidyltransférase ANT, aminosidephospho-transférase APH. En Europe, 84% des isolats d'*A. baumannii* expriment au moins deux enzymes d'inactivation des aminosides **(147)**.

Les enzymes les plus fréquemment rencontrées chez *A. baumannii* sont AAC(3)-I et ANT(3'')-I ou encore AAC(3)-II, AAC(6')-I, ANT(2''), APH(3')-I et APH(3')-VI. Des gènes codant pour des enzymes inactivant les aminosides au sein des intégrons de classe 1 chez *Acinetobacter* sp ont été rapportés **(147)**.

Récemment, la méthylation de l'ARNr 16S par la protéine codée par le gène *ArmA* a été décrite pour la première fois en 2003 **(148)**, puis un peu partout à travers le monde. Ce gène plasmidique est associé au transposon Tn1548. Il a été également identifié chez des isolats cliniques d'*Acinetobacter baumannii* en co-éxistence avec *bla*<sub>OXA-23</sub> et *bla*<sub>NDM-1</sub> **(149)**. Ce mécanisme confère une résistance de haut niveau à tous les aminoglycosides utilisés en thérapeutique.

La résistance aux aminosides a également été associée à l'expression du système d'efflux de type RND (Resistance Nodulation-cell Division) AdeABC par *A. baumannii* **(150)**. La gentamicine et la kanamycine sont également des substrats de la pompe AbeM, membre de la famille des transporteurs MATE (Multidrug and toxic compound extrusion).

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

### D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides, des transposons ou des cassettes au sein d'intégrons, facilitant leur rapide dissémination. Les enzymes d'inactivation des aminosides les plus fréquemment rencontrés chez *A. baumannii* figurent dans le tableau 6 ci-dessous.

En Algérie le premier cas d'*Acinetobacter baumannii* hébergeant la méthylase ArmA est décrit en 2014, associé au gène NDM1, chez un patient hospitalisé à l'hôpital militaire du centre **(134)**, alors que les premiers cas de méthylase sont décrits dans le monde pour la première fois chez des entérobactéries en 2003 **(148)**.

Des souches de salmonelles sp. isolées au CHU de Constantine en 1998, sont décrites en 2009 **(151)** hébergeant le gène ArmA préexistant à la découverte du gène au niveau mondial.

Ce mécanisme était associé à la présence d'une BLSE CTX-M, ces deux gènes étaient portés tous deux par un même plasmide.

De même en 2011 toujours à Constantine **(152)** sont décrites des Salmonelles ArmA, BLSE type CTX-M15, ces publications concluent que les entérobactéries ont été et sont pourvoyeuses de ces gènes chez les autres espèces, ce qui pourrait être le cas pour *Acinetobacter baumannii*.

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

**Tableau 6. Enzymes d'inactivation des Aminosides les plus communes chez *A. baumannii* et substrats préférentiels. (204)153**

| Aminosides<br>Enzymes | Gentamicine (G) Nétilmicine (N) Amikacine (A)<br>Tobramycine (T) Néomycine (Neo) Isepamicine (I) |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       |                                                                                                  |
| Acétylases            |                                                                                                  |
| AAC(3)-I              | G                                                                                                |
| AAC(3)-II             | GTN                                                                                              |
| AAC(6')-Ia            | TNA                                                                                              |
| AAC(6')-II            | GTN                                                                                              |
| Adénylases            |                                                                                                  |
| ANT(2'')-I            | GT                                                                                               |
| ANT(3'') :aadA        | Streptomycine, Spectinomycine                                                                    |
| Phosphorylases        |                                                                                                  |
| APH(3')-I             | KNeo                                                                                             |
| APH(3')-VI            | KNeo AI                                                                                          |
| Méthylase Arm A       | GTA                                                                                              |
| 16S RNA (rRNA)        | GTAN                                                                                             |
| Rmt A                 |                                                                                                  |

### IV.2.4. Résistance acquise aux fluoroquinolones :

*Acinetobacter* sp. est naturellement résistant à l'acide pipémidique, mais était sensible à l'acide nalidixique jusque dans les années 1970. La résistance aux fluoroquinolones est apparue très rapidement après l'introduction de ces molécules en thérapeutique.

Les mécanismes de résistances décrits sont liés à des mutations dans la cible des quinolones que sont les topoisomérases de type II (ADN gyrase et topoisomérase IV). Ces mutations se situent au niveau des gènes codant pour une sous-unité de l'ADN gyrase, ou pour une sous-unité de la topoisomérase IV, ParC. Les mutations dans le gène *parC* interviennent dans des souches où

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

*gyrA* est déjà muté entraînant des niveaux de résistance très élevés à la ciprofloxacine **(153)**.

Les mécanismes de résistances plasmidiques aux quinolones sont : les protéines Qnr (Quinolone résistance).

Plusieurs familles de gènes Qnr ont été décrites : Qnr A, Qnr B, Qnr S, Qnr C et Qnr D. La structure des Qnr, très proche de la structure de la double hélice d'ADN, a conduit à évoquer un mode d'action des Qnr par « mimétisme de l'ADN » au niveau du site actif de l'ADN gyrase. Les quinolones se fixent au complexe ADN-ADN gyrase, la protéine Qnr en se fixant sur l'ADN gyrase empêcherait la formation du complexe sur lequel se fixent les quinolones. Ce mode d'action est toujours très discuté **(154)**.

Comme pour les  $\beta$ -lactamines et les aminoglycosides, les systèmes d'efflux de types RND (AdeABC, AdeIJK) et de type MATE (AdeM) jouent un rôle important dans la résistance aux fluoroquinolones **(150)**.

### **IV.2.5.Résistance acquise aux autres antibiotiques :**

*A. baumannii* est naturellement résistant au chloramphénicol. La résistance acquise à haut niveau observée chez certains isolats cliniques est due à la production d'une acétyltransférase dont le gène peut être flanqué de séquences d'insertion permettant l'amplification du gène. Ce mécanisme peut être combiné à l'action des systèmes d'efflux de type RND.

*Acinetobacter* est naturellement résistant à bas niveau au triméthoprim (CMI = 16-32 mg/L). La résistance de haut niveau est due à l'acquisition d'un gène de résistance, *dhfrI*, porté par un plasmide qui porte également des gènes de résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la kanamycine, à la streptomycine et au sulfaméthoxazole. La résistance au triméthoprim est également associée à l'expression des systèmes d'efflux de type RND AdeABC et AdeIJK par *A.baumannii* **(201)**.

Les souches d'*Acinetobacter* résistantes à la tétracycline expriment, en général, un des deux mécanismes de résistance suivant : un système d'efflux

## CHAPITRE IV : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

ou un système de protection ribosomique. L'acquisition de résistance est, en général, médiée par transfert de gènes.

Les gènes codant pour T et A et T et B, intervenant chacun dans un système d'efflux des tétracyclines énergie dépendant, ont été rencontrés dans des isolats cliniques et aquatiques d'*A. baumannii*. Le gène *tetM* codant pour une protéine de protection ribosomique a été rencontré dans un isolat clinique de *A. baumannii*. La résistance intrinsèque à la tétracycline a été également associée à l'expression des systèmes d'efflux de type RND AdeABC et AdeIJK. La tétracycline est également un substrat des systèmes d'efflux de type RND AdeABC et AdeIJK **(150)**.

Les tétracyclines peuvent constituer une alternative thérapeutique dans les infections à *A. baumannii*. La résistance à cette famille d'antibiotiques s'est développée moins vite que chez d'autres bactéries à Gram négatif.

La tigécycline, molécule dérivée des cyclines, est active sur *A.baumannii* mais des mutants résistants ont été décrits.

Pour la colistine deux mécanismes sont décrits actuellement pour *Acinetobacter baumannii*, addition d'un phosphoethanolamine au lipide A du LPS, résultant d'une mutation dans les gènes codant pour les protéines PmrA et PmrB ce qui rend la membrane externe inaccessible à l'action de la colistine, le deuxième mécanisme est une perte du LPS, due à une mutation des gènes LpXA ,LpXC et LpXD **(116)**.

## CHAPITRE V

---

# MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES

### V. Marqueurs épidémiologiques

#### V.1.Sérotypie

En 1989 TRAUB a développé des systèmes de sérotypage pour *Acinetobacter baumannii* et *Acinetobacter* sp3, basés sur la reconnaissance de déterminants de la membrane (vraisemblablement le LPS). Actuellement 34 sérovars sont reconnus chez *A.baumannii* et 26 chez *Acinetobacter* sp3. Ce système est un outil simple et peu onéreux qui peut être utile pour la détection d'épisodes nosocomiaux dus à ces deux espèces.

#### V.2. Lysotypie

Système développé à l'institut Pasteur de Paris dans les années 90 qui s'est révélé utile dans l'étude de flambées hospitalières en Europe. Constitué de deux panels complémentaires de bactériophages l'un comportant 25 phages permettant l'identification de 125 lysotypes **(155)** cependant ce système a été développé en l'absence d'une taxonomie éprouvée et n'a été utilisé que dans un seul laboratoire au monde **(156)**.

#### V.3.Biotypie

Elle repose sur les caractéristiques métaboliques Bouvet et Grimont en 1987 en utilisant des substrats définis ont pu individualiser 19 biotypes dans les espèces d'*Acinetobacter* hospitaliers.

#### V.4.Typage génomique ou génotypage et caractérisation d'une épidémie

Plusieurs méthodes de typage génomiques ont été mises au point pour *Acinetobacter* ainsi la ribotypie, l'électrophorèse en champs pulsé d'ADN, la PCR ont été largement utilisées ces dernières années.

**V.4.1. Profil protéique** : méthode délicate et longue.

**V.4.2. Profil plasmidique** :

méthode intéressante pour les souches hébergeant beaucoup de plasmides (*staphylocoque épidermidis*, salmonelles) cependant les bactéries peuvent perdre ces plasmides et leur instabilité est un inconvénient majeur pour utiliser cet outil comme marqueur épidémiologique.

### **V.4.3.Profil de restriction ou restriction endonucléase analysis (REA)**

les profils de restriction comportent un grand nombre de bandes (jusqu'à 1000) ce qui rend leur comparaison souvent difficile ; l'interprétation est facilitée si des fragments d'ADN de petite taille sont comparés en utilisant un gel de polyacrylamide.

### **V.4.4.Electrophorèse en champ pulsé (157)**

L'électrophorèse en champ pulsé (pulsed-field gel electrophoresis – PFGE) est une technique d'électrophorèse basée sur l'utilisation d'enzymes de restriction reconnaissant des sites de coupure sur l'ADN bactérien, générant un nombre restreint d'ADN de grande taille.

Cette méthode est reconnue comme la méthode de référence pour le typage des souches d'*A.baumannii*. Dans l'électrophorèse conventionnelle sur gel d'agarose, les molécules d'ADN de taille de plus de 40 à 50 kilobases ne peuvent pas migrer de façon efficace. En changeant la durée et la direction du champ électrique, l'électrophorèse en champ pulsé permet de séparer les molécules d'ADN dont la taille peut dépasser 1000 kilobases. Ce typage par macrorestriction permet d'atteindre un pouvoir discriminatoire très élevé. L'enzyme la plus fréquemment utilisée pour l'étude de la clonalité chez *A. baumannii* est *Apal*. Le système d'analyse permet de garder les données en mémoire et de pouvoir comparer ces données d'une électrophorèse à l'autre dans le même laboratoire **(157)**.

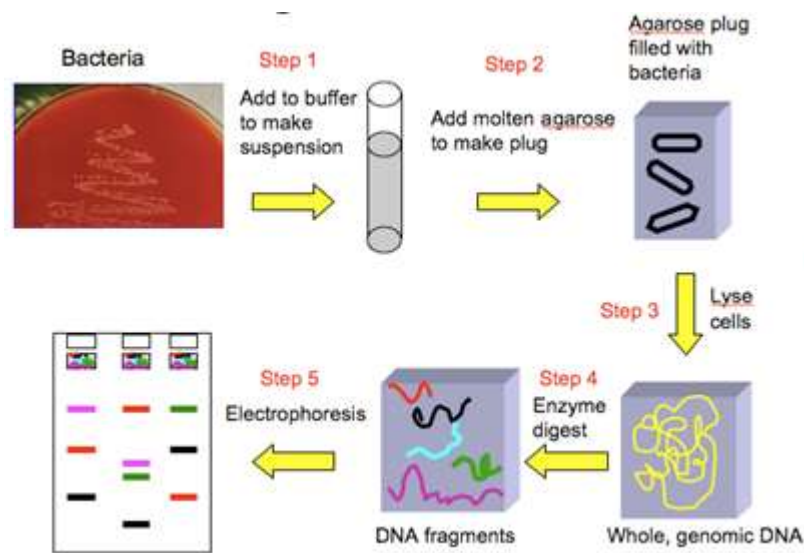
En effet cette technique a été mise au point dans les années 1980 .Elle est considérée comme la meilleure des méthodes de typage moléculaire, car elle a un pouvoir discriminatoire puissant et une plus grande reproductibilité. Cependant, cette méthode est la plus laborieuse des méthodes d'empreintes génétiques (fingerprinting methods). Elle est principalement utilisée pour étudier la diversité intra- spécifique et vérifier l'origine des souches (clonalité). En épidémiologie elle est appelée la « Gold standard» des méthodes de typage moléculaire des souches. Elle a prouvé son efficacité, lors d'une

épidémie à *Escherichia coli* 0157:H7 vers la fin de l'année 1992 et au début de l'année 1993, aux USA.

Les profils PFGE des isolats provenant des patients malade et du pâté d'hamburger incriminé étaient identiques. Depuis elle est largement utilisée dans les études des bactéries pathogènes d'origine alimentaire et en épidémiologie. L'usage de la méthode PFGE a été, par la suite, étendue à l'étude de la diversité génétique pour les espèces de bactéries lactiques (157).

### V.4.4.1.Principe de l'électrophorèse en champ pulsé ou PFGE : (157)

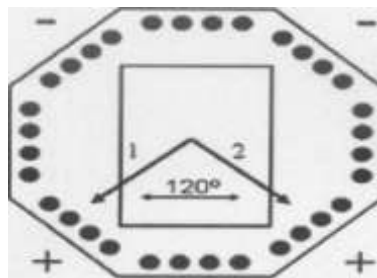
Avec cette technique, il n'y a pas d'amplification d'ADN par PCR. Elle fait partie des techniques basées sur la restriction : Restriction Enzyme Analysis. Les profils générés par PFGE représentent la totalité du génome. La préparation de l'ADN bactérien se fait par lyse in situ des cellules bactériennes dans une matrice semi solide d'agarose 'plug', afin de préserver l'intégrité physique de l'ADN. L'ADN est ensuite soumis à l'action d'une enzyme de restriction à site rare, afin de donner une série de fragments dont le nombre et la taille est caractéristique de l'ADN étudié.



**Figure 5. Schéma représentatif de la technique PFGE**  
( Genetic Testing BY FOOD SAFETY NEWS AUGUST 31, 2009)

Le morceau d'agarose contenant l'ADN bactérien digéré est placé en haut d'un gel d'agarose et l'électrophorèse en champ pulsé est réalisée. On utilise alors une électrophorèse avec un champ électrique à orientation variable ou alternée. A chaque changement d'orientation du champ électrique, les fragments les plus grands se réorientent le plus lentement. Par conséquent, les fragments le plus petits vont migrer le plus rapidement **(157)**.

La PFGE est réalisée avec un appareil de type CHEF (pour Contour Clamped Homogeneous Electric Field), qui est le plus connu des appareils de PFGE. C'est cet appareil qui a été utilisé dans notre étude. Il est de forme hexagonale et de disposition horizontale (Figure 5). La migration des fragments d'ADN est réalisée par des pulsations périodiques d'un champ électrique appliqué en différentes directions. Avec un appareil de type CHEF le champ électrique est appliqué à des angles de 120°C grâce à 24 électrodes. La durée de migration peut être de 20 à 30h.



**Figure 6. Schéma représentatif de l'appareil utilisé dans la méthode PFGE : appareil CHEF**

#### **V.4.4.2.Optimisation de la méthode PFGE (157)**

L'optimisation porte, en général, sur deux thèmes; la réduction du temps de la réalisation de la technique et l'obtention d'un bon gel.

Les principales limites de cette technique sont sa lenteur d'exécution, environ une semaine à 10 jours, et son coût.

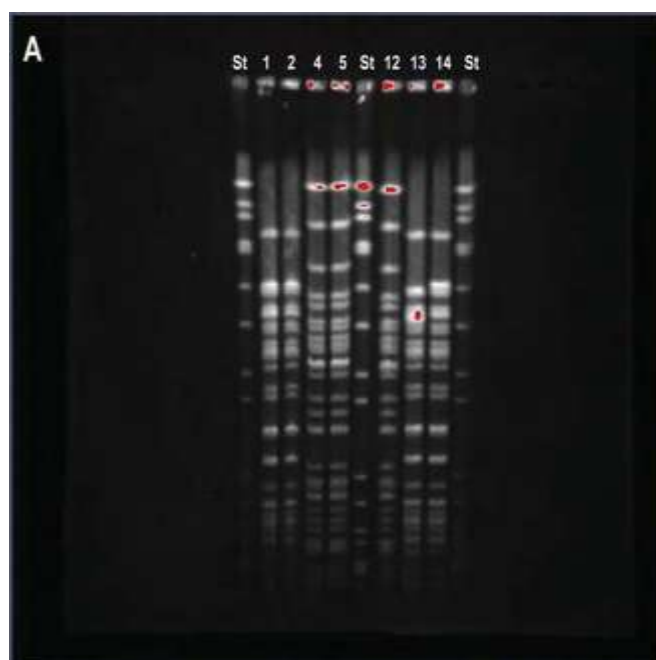
Différents paramètres affectent la séparation et la mobilité des molécules d'ADN durant l'électrophorèse. Cela inclut la composition et la concentration du gel, le tampon, la température, le temps de pulsation, temps de migration et le gradient de voltage du champ électrique.

## CHAPITRE V : MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES

Le travail doit se faire avec une grande précision.

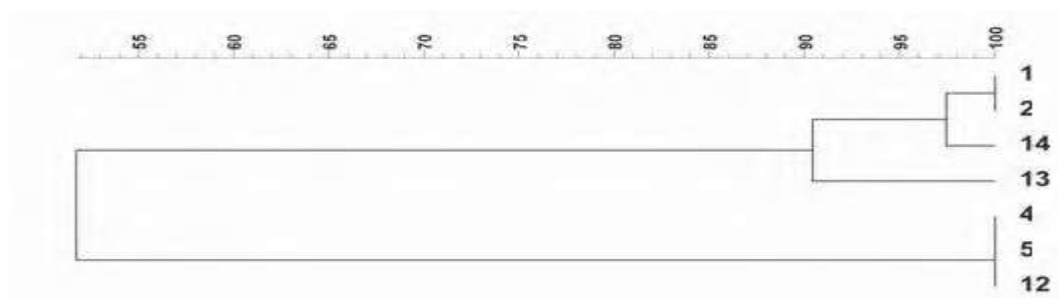
*Apal*, l'enzyme de restriction classique utilisée pour les protocoles de l'Electrophorèse en Champ Pulsé (ECP) pour *A. baumannii* et produit des structures d'ADN complexes avec plus de 40 fragments **(157)**.

Un exemple de profil de macrorestriction de souches bactériennes et son interprétation par l'arbre phylogénique généré ou dendrogramme est à observer ci-dessous (figure 7 et 8).



**Figure 7. Profil d'électrophorèse en champ pulsé obtenu à partir de sept souches.**

Les souches sont 1, 2, 4, 5, 12, 13, 14 d'*A. baumannii* dont les génomes ont été préalablement digérés par l'enzyme *Apal*.



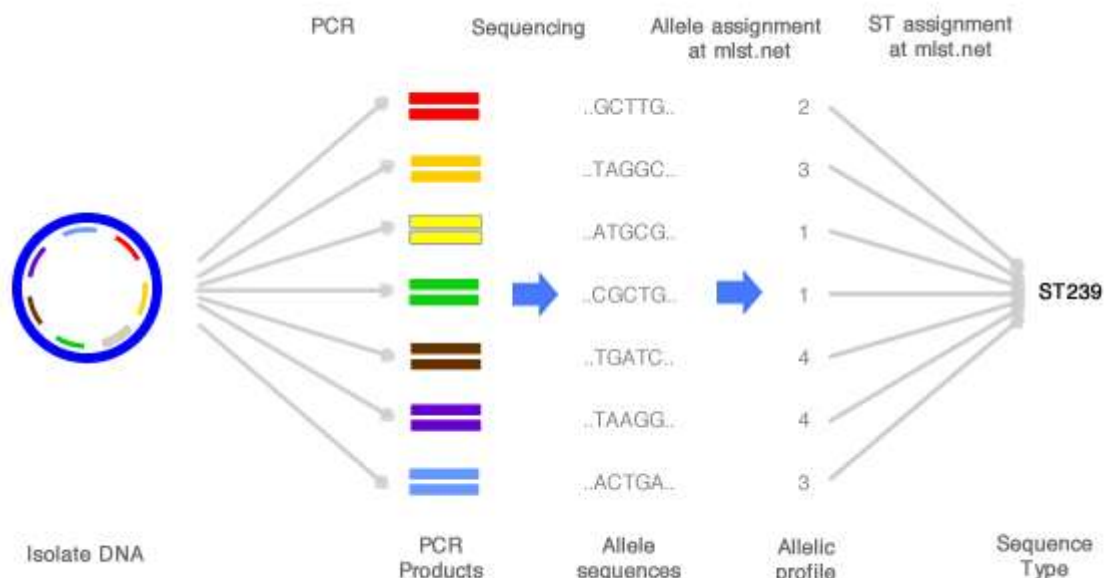
**Figure 8. Dendrogramme obtenu à partir du champ pulsé (158).**

L'expérience a été réalisée sur l'appareil CHEF-DR-III (Biorad®) avec des pulses allant de 3 à 8 secondes pendant 10,5 heures, puis de 12 à 20 secondes pendant 10,5 heures. Voltage : 6 V/cm; angle de switch : 120° standard. Les profils ont été analysés à l'aide du logiciel Fingerprinting (Biorad®) lequel a généré le dendrogramme. Les résultats montrent un profil similaire pour les souches 1, 2, 13, 14 et un autre profil similaire pour les souches 4, 5 et 12.

### V.4.5. Multi-Locus Sequence Typing (MLST)

Cette technique caractérise les souches bactériennes d'une même espèce en utilisant les séquences d'ADN de plusieurs gènes de ménage. Pour chaque gène de ménage, les différentes séquences présentes au sein d'une espèce bactérienne sont assignées comme allèles distincts et pour chacun des isolats, un profil, appelé « séquence type » (ST) est déterminé en fonction de la séquence de ses gènes de ménage. Dans le cadre du typage d'A.

*baumannii*, l'Institut Pasteur de Paris a réalisé un site Internet gratuit expliquant la démarche à suivre. Les amorces utilisées pour les PCR et le séquençage des différents gènes de ménage sont notamment présentées ; on y trouve également les protocoles de PCR.



**Figure 9. schéma de la technique MLST(mlst.net)**

Il existe également une méthode MLST Bartual (développée par les anglo-saxons) ou d'autres gènes sont amplifiés et séquencés.

La technique Pasteur touche à la plupart des espèces du genre *Acinetobacter* proches de *baumannii*, alors que la technique anglo-saxonne est spécifique d'*Acinetobacter baumannii* **(43) (159)**.

Cette technique tend à devenir la technique incontournable dans les études de phylogénie et clonalité mais demeure peu accessible du fait de son coût **(43)**.

### **V.4.6. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)**

Le principe de cette technique repose sur l'amplification par PCR de fragments d'ADN préalablement digérés par deux enzymes de restriction, l'une à fréquence de coupure élevée (*EcoRI*) et l'autre à fréquence de coupure faible (*MseI*). Une ligation d'adaptateurs aux extrémités des fragments de restriction est ensuite effectuée et une PCR réalisée. Enfin, les fragments amplifiés sont séparés par électrophorèse et les profils analysés **(160)**.

### **V.4.7. Le Système Diversilab®**

Ce nouveau système semi-automatique conçu par le laboratoire BioMérieux est un outil puissant permettant de réaliser un suivi épidémiologique de souches bactériennes responsables d'épidémies, comme *A. baumannii*. Il est basé sur l'amplification de séquences répétitives (rep-PCR) de tailles différentes présentes dans les génomes bactériens. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse dans un système microfluidique et une empreinte génétique rep-PCR est créée ; elle contient plusieurs bandes de diverses tailles et intensités. Les isolats peuvent ainsi être différenciés rapidement et avec précision **(161) (162)**.

### **V.4.8. Multiple-Locus Variable number of tandem repeat Analysis (MLVA)**

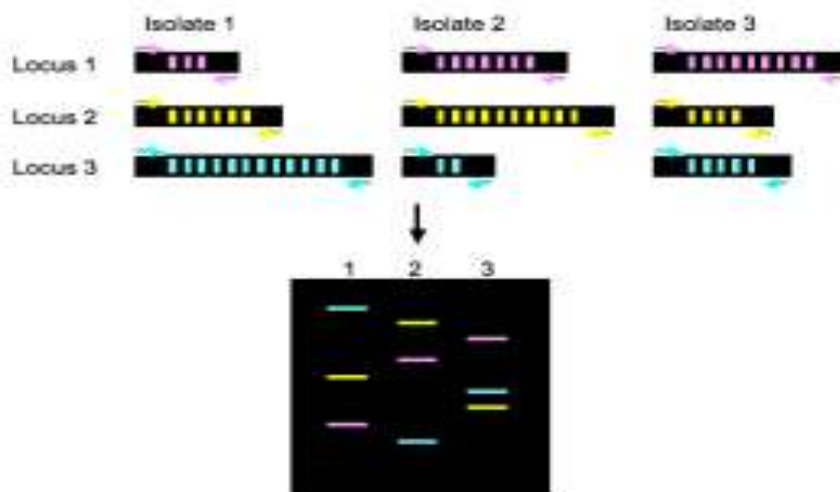
Le principe de la MLVA repose sur l'analyse du nombre variable de répétitions en Tandem (VNTR pour variable-number- tandem- repeat) retrouvées à différents loci d'un génome. Ces répétitions en Tandem sont en fait des séries

## CHAPITRE V : MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES

de séquences répétées consécutives de un à plus de 200 nucléotides, d'identité parfaite ou non.

Elles sont dues à des erreurs de l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN, leur longueur est variable : d'une paire de bases (pb) ce sont des microsatellites ou supérieur 8 pb appelés mini satellites.

Les VNTR sont présents chez toutes les souches d'une espèce étudiée, mais polymorphes **(163)**.



**Figure 10. schéma représentant la technique MLVA**

( Genetic Testing BY FOOD SAFETY NEWS AUGUST 31, 2009)

La MLVA implique la détermination du nombre de répétitions en un certain nombre de loci. La lecture est visuelle, on obtient ainsi un code numérique, par exemple, 3-6-12 pour la souche 1, comme représenté à la Figure 10. Le premier chiffre se rapporte au nombre de répétitions du premier motif séquentiel d'ADN au premier locus analysé, le deuxième chiffre se rapporte au nombre de répétitions du deuxième motif séquentiel d'ADN au deuxième locus analysé, etc..

Si deux souches appartiennent au même clone, elles ont le même nombre de VNTR dans les loci définis et migreront par PCR aux mêmes positions. Les souches 1,2 et 3 ci-dessus n'ont pas le même nombre de VNTR, au niveau des loci 1 ,2 et 3 et ne sont pas d'identité parfaite.

## CHAPITRE V : MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES

---

Les VNTR sont définies par espèce elles sont au nombre de neuf pour *Acinetobacter baumannii* et sept pour *Pseudomonas aeruginosa*.

**V.4.9. *bla*<sub>OXA-51</sub> séquence-based typing (SBT):** comme le gène *bla*<sub>OXA-51</sub> est propre à *Acinetobacter baumannii*, il peut être utilisé comme marqueur pour l'identification de cette espèce mais aussi dans une technique de génotypage récemment mise au point **(164) (165)**.

Le gène *bla*<sub>OXA-51</sub> est un gène de la  $\beta$ -lactamases chromosomique intrinsèque naturellement présent chez *A. baumannii* et un maximum de 95 variants de ce gène a été identifié à ce jour. Celle ci est une carbapénèmase type oxacillinase sans activité de résistance décelable.

Cette méthode de typage consiste à séquencer la longueur (825 pb) d'un seul locus *bla*<sub>OXA-51</sub> gène. Préalablement Le gène *bla*<sub>OXA-51</sub> est amplifié par des amorces externes OXA-69A / OXA-69B. L'oxacillinase 69 est un variant très proche de l'oxacillinase 51.

Les produits de PCR sont purifiés et séquencés . Les séquences résultantes sont comparées à toutes les variantes présentes dans la gène banque (BLAST). Ces Variants sont appelés également oxa-type.

### **V.4.10. Comparaison des différentes méthodes de génotypage utilisées pour l'étude phylogénique de souches lors d'épidémies**

La technique d'électrophorèse en champ pulsé est l'une des techniques les plus utilisées dans les laboratoires pour l'analyse de souches dans des contextes d'épidémies. Elle représente encore à ce jour le « gold standard » pour l'étude de nombreux pathogènes. Son avantage principal réside dans son pouvoir discriminant très élevé, mais cette technique est consommatrice de temps et requiert un grand savoir faire. Par ailleurs, il est souvent impossible de comparer les résultats d'un laboratoire à un autre.

Concernant la MLST, elle est de plus en plus utilisée dans le cadre du typage des souches en contexte d'épidémies. Un des avantages par rapport à d'autres méthodes de typage moléculaire réside dans le fait que les données

## CHAPITRE V : MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES

---

de séquences sont transférables entre laboratoires, ce qui conduit à la création de bases de données mondiales permettant l'échange de données de typage *via* Internet. Toutefois, cette méthode n'est utilisable que sous la condition qu'un séquenceur soit disponible au sein du laboratoire.

Une très bonne corrélation (de 100%) existe entre la MLST et *bla*<sub>oxa51-like</sub> Séquence Base Typing rapportée dans l'étude de Hamouda et al. et qui constitue une référence mondiale ou des souches de tous les continents ont été comparées **(159)**.

Cette étude indique une bonne corrélation entre la MLST (Bartual) et le typage basé sur le séquençage de l'oxacillinase naturelle oxa 51, et préconise à ce que les études de clonalité, chez *Acinetobacter baumannii* soient réalisées en commençant par la *bla*<sub>OXA-51</sub> SBT, suivie de la MLST.

La corrélation est de 60% à 70% entre la PFGE, MLST et *bla*<sub>OXA-51</sub> SBT **(159)**

La PFGE sera réservée pour une étude plus affinée car jugée trop laborieuse et ne permet pas de comparaison inter laboratoire.

Les variants alléliques de l'oxacillinase 51 sont regroupés dans plusieurs complexes clonaux internationaux (CC) ou clones dont les plus fréquents sont CC1, CC2, CC3, CC4.....

Les Séquences types(ST) de la MLST, regroupées constituent un complexe clonal ou clones.

Seules ces deux techniques, permettent une classification clonale des souches, les clones sont bien définis selon une dénomination internationale.

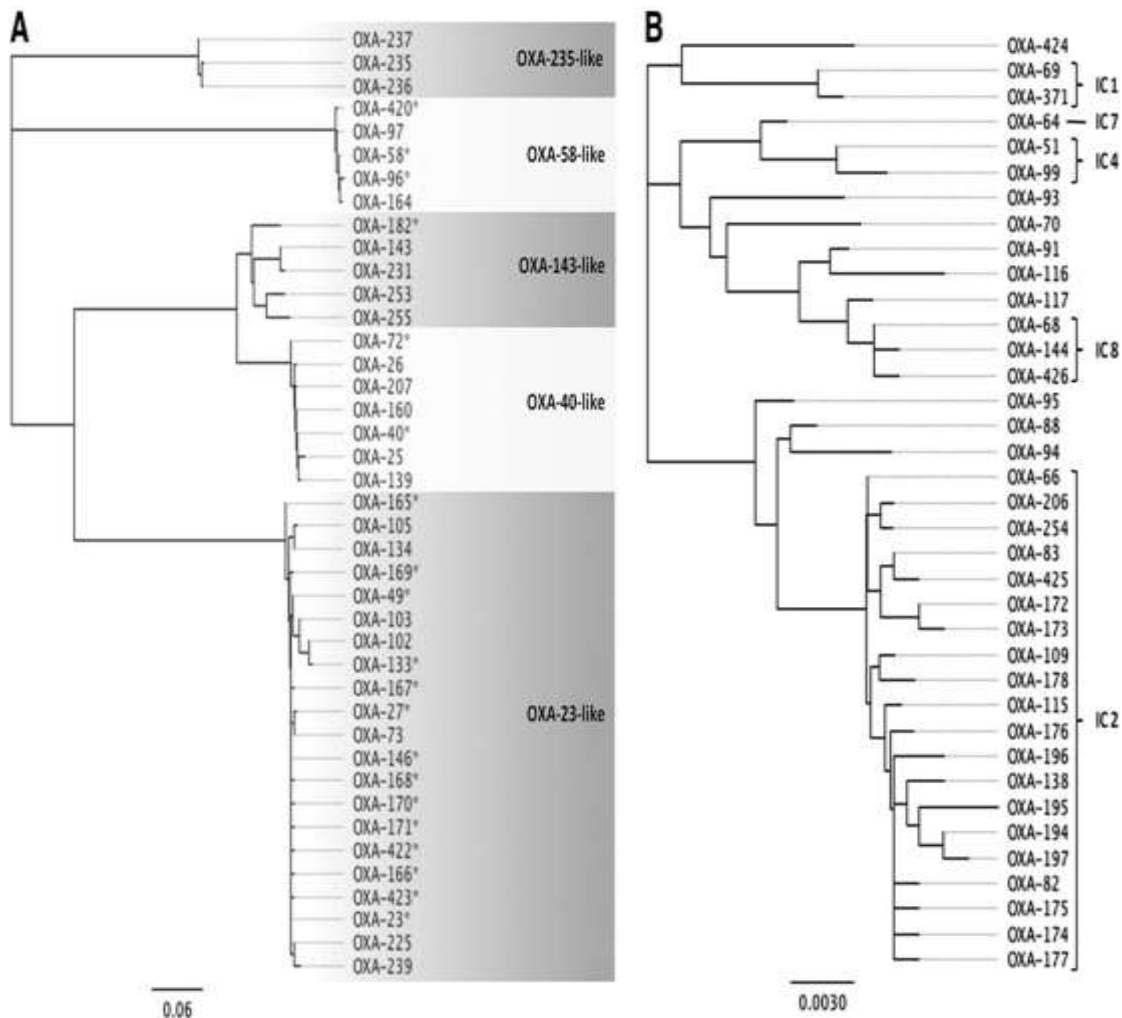
Trois clones internationaux dominant actuellement au niveau mondial et ont été baptisés en référence aux clones européens qui y sont inclus (voir tableau 7).

La corrélation entre les deux méthodes est presque totale à quelques exceptions près en effet un même variant allélique de l'oxacillinase naturelle 51 peut donner différentes Séquences Type en MLST, et inversement (voir tableau ci-dessous), cependant les ST ne changent jamais de complexe clonal de même pour les variants de l'oxacillinase naturelle 51 **(165)**.

## CHAPITRE V : MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES

**Tableau 7. Corrélation entre les variants de l'oxacillinaise intrinsèque 51 et des séquences type ( Hamouda et al)(159)**

| Variant MLST, oxa 51<br>Type de clone                                                  | Variant Allelique de l'oxacillinaise 51                        | Sequence Type correspondante                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Complexe Clonal 1 ou Clone International 2</b><br><b>Ou complexe clonal 92 CC92</b> | <b>-OXA66</b><br><br>-OXA 82 ,OXA83<br>-OXA 109                | <b>-ST34 (clone Europeen II)</b><br>ou ST36 ou ST40 ou ST40<br>-ST22<br>-ST46<br><b>-ST2</b> |
| <b>Complexe Clonal 2</b><br><b>Clone International 1</b>                               | -OXA-107,OXA-110<br>-OXA-69<br>-OXA-107<br>-OXA-92<br>-OXA-112 | -ST49<br>-ST47 ou <b>ST33(clone Européen I)</b><br>-ST51<br>-ST37<br>-ST33                   |
| <b>Complexe Clonal 3</b><br><b>Clone International 3</b>                               | -OXA-71<br>-OXA-71                                             | <b>-ST 35 (clone Europeen III)</b><br>-ST38                                                  |
| <b>Complexe Clonal 4</b><br><b>Clone International 4</b>                               | -OXA-51<br>-OXA-51<br>-OXA-98                                  | -ST50<br>-ST-48<br>-ST-45                                                                    |



**Figure 11. Dendrogramme différenciant les oxacillinasés à activité carbapénémase (et variants) (A), et oxacillinasés variantes de l'oxacillinasé intrinsèque *bla*<sub>OXA-51</sub> corrélées aux clones internationaux (B) (Kamolvit 2015) (43).**

-Le complexe clonal 1 : CC1 correspond au IC2 : International clonal 2 ou clone international 2 connu également sous le nom de complexe clonal 92 (CC92) notamment en Asie du Sud Est. (voir figure 11 et tableau 7)

-Le complexe clonal 2 : CC2 correspond au IC1 International clonal 1 ou clone international 1 ces inversions de dénomination pour les clones internationaux 1 et 2 et leur correspondance avec les deux complexes clonaux 1 et 2 ont suivi celle des clones européens (voir le tableau ci-dessus).

CC3 correspond au IC3 International clonal 3 etc..... certains variants ne font partie d'aucun complexe clonal ce sont des clones singletons.

# CHAPITRE VI

---

# CLINIQUE

### VI.Clinique

*A.baumannii* peut infecter n'importe quel organe. Sa responsabilité dans une infection est rendue difficile par sa capacité à coloniser les tissus, qu'ils soient sains ou infectés. Plusieurs tableaux cliniques sont individualisés.

#### VI.1. Les pneumopathies

##### VI.1.1. Les pneumopathies communautaires

Les pneumopathies communautaires à *A. baumannii* constituent une pathologie connue depuis une vingtaine d'années et restent une infection rare. Elles ont été initialement décrites dans les régions tropicales de l'Australie et l'Asie. En effet, dans une étude rétrospective réalisée dans plusieurs pays ou régions asiatiques (Corée, Taiwan, Singapour, Hong-Kong, Vietnam, Philippines), elles ne représentaient que 1% des pneumopathies communautaires à bacilles à Gram négatif et 0,1% de l'ensemble des pneumopathies communautaires **(166)**.

Les principaux facteurs de risque identifiés dans pratiquement toutes les séries publiées sont le tabagisme, l'alcoolisme, la présence d'une broncho-pneumopathie chronique obstructive, et le diabète ou d'autres co-morbidités comme la cirrhose hépatique et les pathologies néoplasiques. Les patients atteints sont également en général plutôt jeunes (âge médian < 60 ans) et de sexe masculin.

##### VI.1.2 .Les pneumopathies nosocomiales

Une pneumonie nosocomiale (PN) est une infection pulmonaire survenant durant un séjour hospitalier, qui n'existait pas ou n'était pas en incubation à l'admission à l'hôpital.

Elles représentent la deuxième cause d'infection nosocomiale (20 %). Elles concernent 0,5 à 1 % des patients hospitalisés et le risque est multiplié par 3 à 10 chez les patients intubés-ventilés. Les pneumopathies nosocomiales représentent la première cause de décès par infection nosocomiale **(167) (168)**.

## CHAPITRE VI : CLINIQUE

---

En fonction du délai de survenue de PN, on distingue :

- les pneumopathies précoces : survenant avant le 5ème jour d'hospitalisation, le plus souvent dues aux germes commensaux des voies respiratoires supérieures.
- les pneumopathies tardives : acquises après le cinquième jour d'hospitalisation, où les germes hospitaliers et multirésistants (comme *A. baumannii*) sont plus fréquemment identifiés.

Les principaux germes identifiés dans les pneumopathies acquises sous ventilation assistée (PAV) sont les *Staphylococcus aureus*, les *Pseudomonas aeruginosa* et les Enterobactéries. Le genre *Acinetobacter* sp représente 7,9 % des PAV documentées par bronchoscopie.

En Algérie les chiffres du réseau AARN, **(169)** en 2014 et 2015 laissent supposer qu' *Acinetobacter baumannii*, domine en soins intensifs ou le plus souvent les prélèvements effectués proviennent du site respiratoire, en effet en 2014 les isolats en proviennent dans 67,32% des cas, alors que les isolats issus du site opératoire en chirurgie occupent la première position avec un taux de 71,65%. Cette tendance se renverse en 2015, où le site respiratoire prend la première place avec 82,79% des isolats.

Aux Etats-Unis, les données issues de la surveillance nationale des infections nosocomiales ont montré que la part d'*A.baumannii* dans les pneumopathies acquises en réanimation était passée de 4 % en 1986 à 7 % en 2003. Toutefois, il est très probable que dans certains établissements, la proportion de pneumopathies due à cette bactérie en réanimation soit beaucoup plus élevée. Des facteurs de risque en faveur du développement d'une PAV due à *A. baumannii* ont été identifiés : un contexte de neurochirurgie, un traumatisme crânien, un syndrome de détresse respiratoire aiguë, une inhalation importante et une antibiothérapie préalable **(167)**.

### VI.2 .Les bactériémies

Elles ont de multiples localisations initiales, avec au premier plan les pneumopathies, mais peuvent être aussi d'origine traumatique, chirurgicale, ou liées aux cathéters, aux dialyses péritonéales ou chez les grands brûlés. Les septicémies nosocomiales à *A.baumannii* représentent les infections les plus graves, l'incidence varie de 3 à 12% selon les études citées dans la littérature.

Une étude marocaine, concernant les bactériémies en soins intensifs en 2012 et 2013, a révélé une origine pulmonaire des isolats dans 30 % des cas **(170)**.

Une vaste étude américaine regroupant 24 179 cas de bactériémies nosocomiales (1995-2002) mettait *A. baumannii* au dixième rang des pathogènes retrouvés dans les bactériémies nosocomiales mono microbiennes, responsable de 1,3 % de l'ensemble de ces bactériémies et représentant 0,6 cas pour 10 000 admissions **(171)**. Les bactériémies à *A. baumannii* étaient plus fréquemment identifiées en réanimation comparé aux services conventionnels (1,6 % des bactériémies en réanimation versus 0,9 % dans les autres services). *A. baumannii* se place ainsi au troisième rang en terme de mortalité en réanimation, après *P. aeruginosa* et *Candida* sp. Les bactériémies à *A.baumannii* surviennent tardivement au cours de l'hospitalisation, en moyenne 26 jours après l'admission.

### VI.3.Infection de la peau et des tissus mous

*A. baumannii* est fréquemment isolé d'infections de la peau et des tissus mous, comme citées ci-dessus les infections à *Acinetobacter baumannii* en chirurgie, occupaient la première place en Algérie en 2014 à 71,65%, et régressent en 2015 avec un taux de 69,62% **(169)**.

De même une étude Tunisienne, indique que les isolats d'*Acinetobacter baumannii* émanant de la chirurgie représentent 18%, loin derrière les isolats provenant des soins intensifs qui représentent 71% **(172)**.

D'après une étude réalisée dans le sud de la Thaïlande après le tsunami ayant touché l'océan Indien en 2004, *A.baumannii* était encore assez bien

représenté (4,1 %) parmi les espèces isolées des infections de la peau et des tissus mous des survivants de la catastrophe, mais il n'atteignait que le septième rang des espèces retrouvées, loin derrière des bactéries d'origine marine comme *Aeromonas spp.* *A. baumannii* était également parmi les bactéries les plus souvent isolées des prélèvements réalisés chez les patients rapatriés des pays touchés par le tsunami de 2004 **(166)**.

### **VI.4. Infections du tractus urinaire**

*A.baumannii* est une cause très occasionnelle de l'infection de tractus urinaire, il est responsable de seulement 1,6% des infections urinaires acquises dans les unités de soins intensifs (USI) **(173)**. Classiquement, cette bactérie est retrouvée en présence d'un cathéter urinaire. La colonisation est fréquente et la différenciation avec l'infection est souvent délicate.

### **VI.5.Méningite**

*A.baumannii* est rarement décrit comme agent responsable de méningites nosocomiales. Sous forme secondaire après un traumatisme cranio-cérébral ou après intervention neurochirurgicale. Elle est considérée comme une rare complication des procédures neurochirurgicales.

## CHAPITRE VII

---

# **Diagnostic bactériologique d'*Acinetobacter baumannii***

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### VII. Diagnostic bactériologique d'*Acinetobacter baumannii*

#### VII.1. Prélèvements Microbiologiques

*A.baumannii* est surtout isolé à partir de sécrétions broncho-pulmonaires, pus, cathéters, urines, divers dispositifs médicaux implantés et hémocultures.

Le caractère adaptatif d'*Acinetobacter* lui permet de survivre dans un environnement hostile. Cette qualité lui permet de subsister dans tout prélèvement destiné à la microbiologie, hors prélèvement en anaérobiose, sans nécessité d'utiliser un milieu de transport. Les souches peuvent être conservées quelques semaines en pique dans un milieu gélosé classique.

**(174).**

#### VII.2. Examen Microscopique :

Les prélèvements sont systématiquement examinés au microscope optique, entre lame et lamelle, au grossissement 40. Cet examen est un bon critère d'orientation puisqu'il met en évidence l'immobilité de l'*Acinetobacter baumannii*.

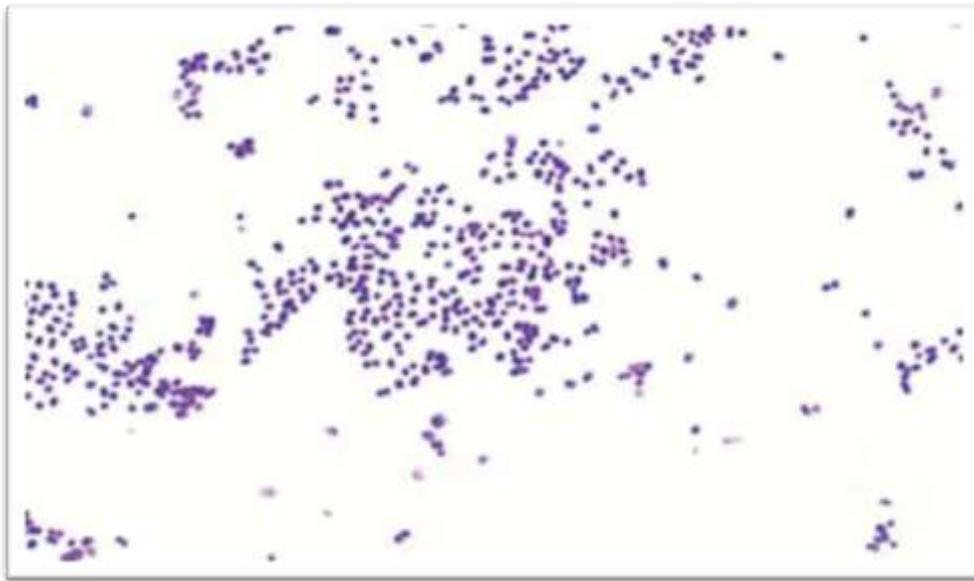
L'examen microscopique des échantillons biologiques peut orienter le diagnostic : l'*A.baumannii* se présente sous forme de coccobacilles à Gram négatif (immobiles dans les hémocultures). La coloration de Gram montre parfois un aspect bigarré de la coloration (formes à Gram positif et à Gram négatif).

L'examen direct mettant en cause l'*A. baumannii* peut être à l'origine de difficultés. En effet, ces bactéries peuvent apparaître à Gram positif et être confondues avec des staphylocoques (figure 12). Pour ajouter à la confusion, *A. baumannii* a parfois été nommé « *Staphylococcus aureus* à Gram négatif » en raison de son comportement en milieu hospitalier.

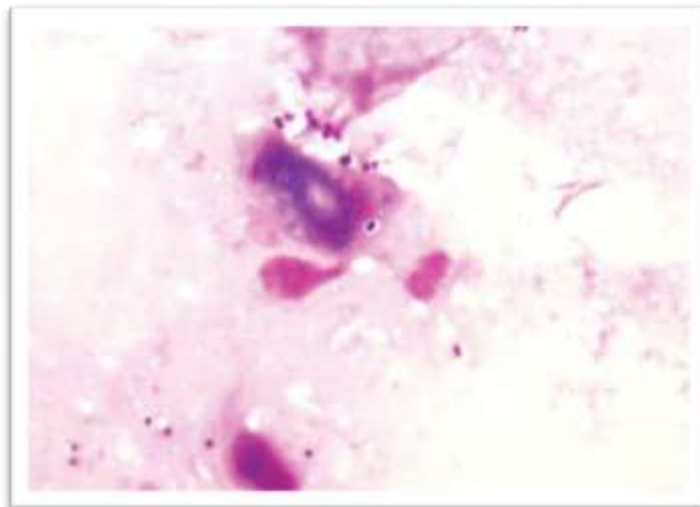
Trente pour cent des souches d'*A.baumannii* possèdent une capsule, que l'on peut identifier à la coloration de Gram par le halo clair qui entoure la bactérie (figure 13). Les bactéries se groupent en gros amas à la façon des *Neisseriaceae* (famille à laquelle elles ont appartenu) **(175).**

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---



**Figure 12. Aspect coccoïde à Gram variable.**  
(ABIS Encyclopedia *Acinetobacter baumannii*)



**Figure 13. *Acinetobacter* sp dans un prélèvement pulmonaire**  
(ABIS Encyclopedia *Acinetobacter baumannii*)

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### VII.3.Caractères Culturels

L'isolement des *Acinetobacter* est très aisé, il peut être réalisé à l'aide de milieux gélosés courants (gélose trypto-caséine soja ou gélose infusion cœur-cerveau).

Un milieu différentiel comme la gélose à l'éosine-bleu de méthylène ou la gélose de MacConkey peut être utile pour reconnaître les colonies d'*Acinetobacter* lors du premier isolement.

Sur gélose de Drigalski, ils apparaissent lactose négatif généralement irisés, d'un diamètre de 1 à 2 mm en 24 heures ou plus souvent en 2 jours, à 30 °C, et sur gélose chromogène de type UTI ( urinary tract infection), ils apparaissent blancs (figure 16 et 17).

Les souches capsulées sont facilement identifiables en culture. Elles présentent un aspect muqueux ou « smooth » alors que les colonies de souches non capsulées sont plus petites et présentent un aspect rugueux ou « rough » (voir figure 14 et 15).

Les espèces non *baumannii* présentent des colonies souvent plus petites et rarement muqueuses. Les espèces *A. haemolyticus*, *Acinetobacter* sp. 6 et *Acinetobacter* sp. 13 à 17 apparaissent  $\beta$ -hémolytiques sur gélose au sang de mouton ou géloses au sang humain, ce qui n'est jamais observé pour les *Acinetobacter* du complexe.

Une température d'incubation à 35 °C permet une bonne culture de la majorité des souches. Seules les espèces *A. baumannii* et certaines souches du groupe génomique 13 T&U (*A. nosocomialis* sp. nov) sont capables de croître à 44 °C, caractère particulièrement utile pour leur identification, en raison de la complexité de l'identification biochimique d'espèce. Une gélose inclinée en tube dans un bain-marie à 44 °C et immergée à moitié permet de mettre en évidence une culture sur la partie immergée et la partie non immergée pour *A. baumannii* alors que les autres espèces ne pousseront que sur la partie non immergée.

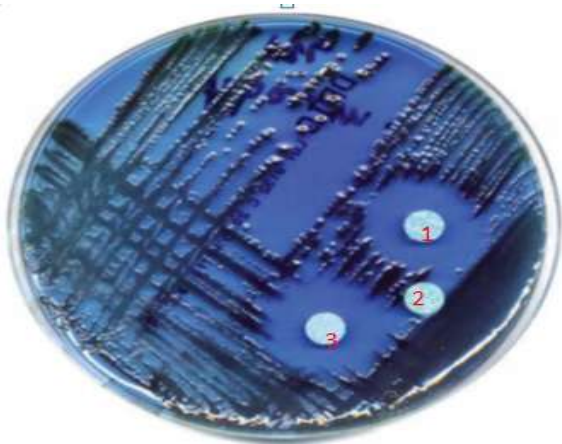
## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII



**Figure 14.** Culture d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* sur gélose Trypticase soja : colonies « smooths » ou muqueuses  
Microbiology pictures.com



**Figure 15.** Culture d'une souche d'*A. baumannii* sur: gélose Trypticase soja colonies « rough » ou rugueuses.  
Microbiology pictures.com



**Figure 16.** *Acinetobacter baumannii* : prélèvement de dépistage sur Drigalski avec 1 disque de ceftazidime (1), amoxicilline + acide clavulanique (2), céfépime (3).  
Microbiology pictures.com



**Figure 17.** *Acinetobacter baumannii* : Gélose UTI additionnée d'un disque de ceftazidime et d'un disque d'imipénème (UTI : Milieu chromogène)  
Microbiology pictures.com

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

### D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

#### VII.4. Identification

La première étape consiste à identifier le genre *Acinetobacter* :

- L'aspect au Gram et l'immobilité du germe entre lame et lamelle sera déjà une excellente orientation.
- Le test à l'oxydase négatif permet d'exclure les *Psychrobacter* et *Moraxella*.

La deuxième étape consiste à différencier l'espèce *baumannii* (et 13 TU) prévalente en milieu hospitalier des autres espèces plus souvent considérées comme contaminants. Les hybridations ADN-ADN représentent la technique de référence mais sont réservées aux laboratoires spécialisés. Les galeries d'identification, largement utilisées, permettent d'identifier facilement toutes les souches d'*Acinetobacter* au rang du genre mais pas au rang d'espèce (API 20NE), même pour des galeries plus complètes (95 caractères : Biolog<sup>R</sup>). En galerie Api 20E : peu de caractères sont positifs. Les résultats évocateurs d'*Acinetobacter* sp. sont : la positivité du glucose, du mélibiose et de l'arabinose (figure 18).

L'association de ces critères au rang de genre associé à la température de croissance positive à 44° permet de différencier *baumannii* et certaines souches 13 TU des autres espèces. Lorsque la souche est hémolytique, elle est fréquemment rendue *A. haemolyticus*.

Les techniques moléculaires basées sur l'amplification génique sont prometteuses pour arriver à l'identification au rang de l'espèce : l'amplification sélective du gène de l'ARN 16S et l'amplification du gène *recA* ont permis la distinction de 17 espèces.

#### ✓ Test D'oxydase

##### - Principe :

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

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII

### - Technique

Ce test est réalisé en ajoutant un disque d'oxydase à une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique.

### - Lecture

Une réaction positive se traduit par une coloration violette en 2 minutes environ. Chez *Acinetobacter baumannii* celle-ci est négative..

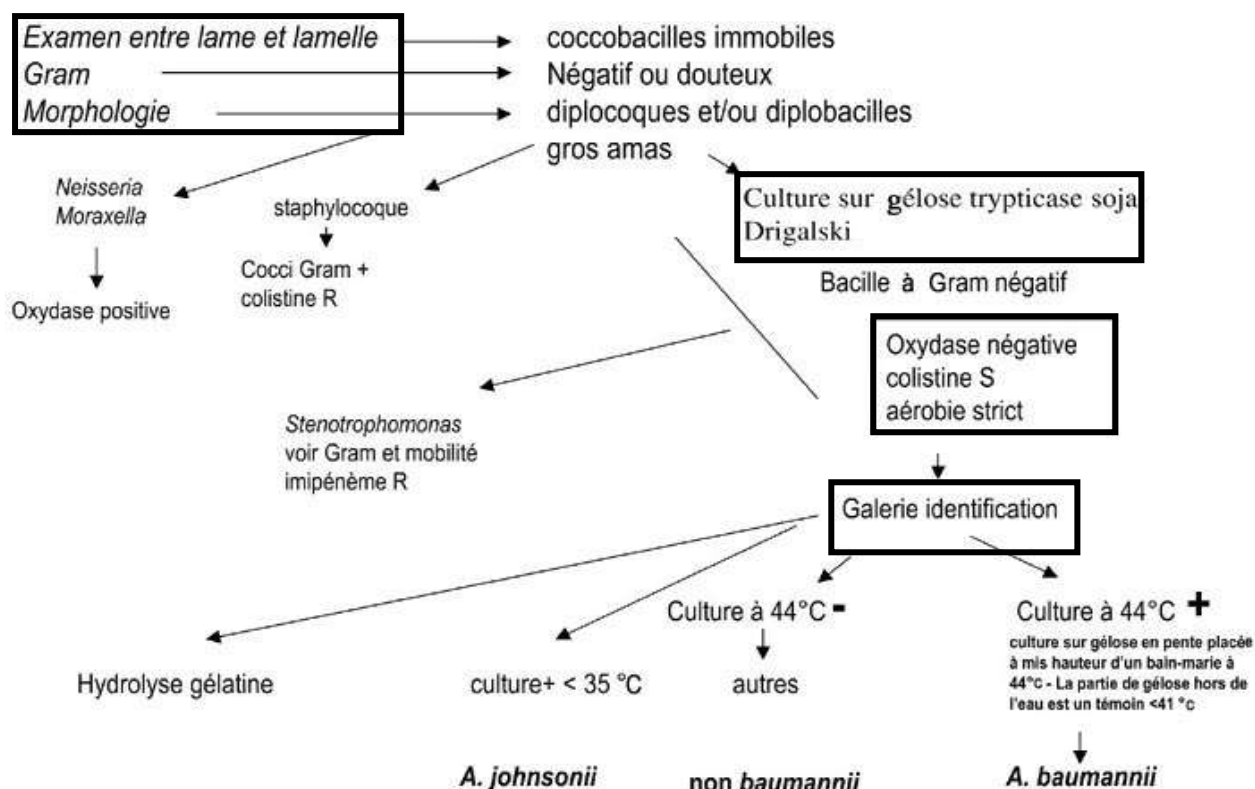
#### ✓ La Galerie API 20 NE

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions est réalisée à l'aide d'un logiciel spécifique.



Figure 18. Api 20E d'une souche d'*A. baumannii* ( laboratoire de microbiologie CHU de Tizi-ouzou)

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII



**Figure 19. Stratégie diagnostique d'*Acinetobacter*.sp au laboratoire.**

Cette figure présente un arbre décisionnel pour le diagnostic d'espèce d'*Acinetobacter* (Nemec et al) (20).

En laboratoire de routine, les identifications bactériennes sont principalement réalisées à partir de systèmes manuels et semi-automatiques (API20NE, Vitek2, Phoenix). Cependant, ces méthodes phénotypiques ne sont pas toujours satisfaisantes car elles ne peuvent différencier certaines espèces génomiquement très proches. Par exemple : les espèces génomiques *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii* (ex gen. sp. 3) et *A. nosocomialis* (ex groupe 13 T&U) sont regroupées dans un seul complexe « *A. calcoaceticus/A. baumannii* ».

L'utilisation des systèmes d'identification phénotypique conduirait ainsi à une mauvaise identification de près de 25 % des souches au sein du complexe « *A. calcoaceticus/A. baumannii* » (176). Il est cependant essentiel, à la fois

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

d'un point de vue clinique et épidémiologique, de pouvoir différencier ces espèces correctement.

Des tests génotypiques, c'est-à-dire faisant appel à la biologie moléculaire, ont été explorés afin de différencier les espèces d'*Acinetobacter* retrouvées en pathologie humaine.

### **VII.5.Principales méthodes moléculaires d'identification d'*Acinetobacter baumannii* :**

#### **VII.5.1.Identification d'*Acinetobacter baumannii* par détection du gène *bla<sub>OXA-51</sub>-Like***

Cette technique est de loin la plus pratiquée

*A.baumannii* possède une oxacillinase intrinsèque, chromosomique, et codée par le gène *bla<sub>OXA-51</sub> like*. Ce dernier ne confère toutefois pas la résistance aux carbapénèmes que lorsqu'il est associé à la séquence d'insertion *ISAba1* en amont quelques fois. Différentes études ont montré que le gène *bla<sub>OXA-51</sub> like* était présent dans la totalité des souches d'*A. baumannii* testées. Etant spécifique à cette espèce, ce gène est à ce jour utilisé dans de nombreuses études relatant la détection de la bactérie en pathologie humaine, et notamment lors d'épidémies. Ce gène peut être détecté aussi bien par PCR traditionnelle que par PCR en temps réel **(177)**.

Les avantages d'une telle technique d'identification résident notamment dans la simplicité et la fiabilité. Les séquences des amorces pouvant être utilisées sont présentées en Annexe 15.

Les techniques suivantes sont moins pratiquées que la précédente, car pour la plupart elles nécessitent la présence d'un séquenceur, elles différencient les espèces du complexe « *A. calcoaceticus/A. baumannii* » :

- par PCR multiplexe ciblant le gène *gyrB* **(176)**.
- par séquençage du gène *Rpob* **(176)**.
- -par séquençage le l'espace intergénique16S-23S de l'Arm ribosomique **(178)**.

## CHAPITRE VII : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### **VII.6.Application de la spectrométrie de masse dans l'identification de l'espèce *Acinetobacter baumannii* et détection des mécanismes de résistance**

Matrix-Assisted Laser Désorption Ionization-Time Of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry (MS) est une technique rapide utilisée en routine pour l'identification des espèces ou des sous espèces au sein du même genre (Espinal et al, 2011).

La technique permet de déterminer non seulement les mécanismes de résistance aux carbapénèmes mais aussi un lien clonal entre souches de différents hôpitaux.

Elle s'inscrit dans les techniques rapides de détection d'*Acinetobacter baumannii* résistant aux carbapénèmes **(179)**.

### **VII.7.Les techniques rapides d'identification d'*Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème**

Le NP (Nordmann-Poirel) test est une technique rapide de détection des carbapénémases type oxacillinase 48 largement utilisée pour les Entérobactéries, et *Pseudomonas aeruginosa* cependant un autre test spécifique à *Acinetobacter baumannii* nommé CarbAcineto NP test avait été créé par les mêmes auteurs mais vite critiqué, vu qu'il ne détectait pas toutes les carbapénémases notamment les oxacillinases lesquelles sont les plus fréquentes chez *Acinetobacter baumannii*.

Un autre test appelé Modified Carba NP (MCNP) a été mis au point. Ce test a été validé après une comparaison des résultats avec ceux donnés par la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) devenue technique de référence **(179)** pour la détection des résistances d'*Acinetobacter baumannii* aux carbapénèmes.

# CHAPITRE VIII

---

# EPIDEMIOLOGIE

### VIII.EPIDEMIOLOGIE

*Acinetobacter* sp est un germe ubiquitaire retrouvé dans les sols, eau potable, eaux de surface ainsi que les diverses denrées alimentaires, 25% de la population est porteuse d'*Acinetobacter* sp au niveau de la flore cutanée particulièrement aisselles et régions inguinales et espaces interdigitaux des orteils, cependant le taux de portage peut être important chez les patients hospitalisés avec transmission par les mains mais également par des appareils d'assistance et des humidificateurs.

L'importance des réservoirs à *Acinetobacter* dans l'environnement hospitalier représente 2 à 5% de l'ensemble des bactéries isolées dans un laboratoire de microbiologie hospitalier. Le manuportage est la voie de transmission la plus fréquente, son taux étudié chez le personnel soignant en période épidémique varie entre 9 et 32%(180).

*Acinetobacter* sp est très résistant aux conditions environnementales, une survie de plusieurs jours dans un environnement inanimé permet la transmission par des vecteurs tels que le linge contaminé, instruments contaminés, tuyaux et ballons d'assistance ventilatoire (181).

La majorité des souches d'*Acinetobacter baumannii* impliquée dans les infections nosocomiales est multi résistante aux antibiotiques (182).

#### VIII.1.Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter* sp.

##### VIII.1.1. *Acinetobacter* sp au Maghreb et en Algérie.

Au Maghreb une épidémie à *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème est décrite au CHU Sahloul-Tunisie en 2007 sur vingt patients admis dans différents services de la structure et ayant présenté une multi résistance aux antibiotiques et montré une clonalité parfaite (183) aussi une autre étude rétrospective en 2002 est décrite à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc et indique la multi résistance aux antibiotiques de 147 souches d' *Acinetobacter baumannii* à partir d'hémocultures, provenant de 67 patients dont les 2/3 étaient admis en réanimation (184) et enfin en Algérie selon le neuvième rapport d'évaluation du réseau national de la surveillance

de la résistance aux antibiotiques 2006-2007 AARN *Acinetobacter* sp résistant à l'imipénème vient en quatrième position des bactéries multi-résistantes (BMR) chez les patients hospitalisés sur un total de 1302 BMR soit 8,9%(117 souches), *Acinetobacter* sp vient après *Pseudomonas aeruginosa* (151 souches) et avant *E-coli*(112 souches) **(169)**.

Cette étude actualisée dans le quinzième rapport d'évaluation en 2014, révèle qu' *Acinetobacter* sp résistant à l'imipénème a pris la première place des BMR en Algérie avec un taux de 65,03% (874/1107), isolé principalement des spécialités chirurgicales à 71,65%, puis des urgences à 70,83% et des soins intensifs à 67,32%, suivi des spécialités médicales à 59,73% et pédiatriques à 45,45%, et surpasse les autres BMR, SARM 47,33%(1021/2157), entérobactéries BLSE+ 27,86% (2557/9178) et *Pseudomonas aeruginosa* 10,03% (180/1794) .

Sa résistance aux molécules des trois familles  $\beta$ -lactamines, aminosides et quinolones, est pour la céftazidime de 88,76%, l'imipénème de 78,76%, pour l'Amikacine de 62,11% et la ciprofloxacine de 81,18%.

En 2015 dans le seizième rapport d'évaluation du réseau national, *Acinetobacter baumannii*, confirme sa première place de BMR, au niveau national avec un taux de 74,31% isolé cette fois ci principalement des soins intensifs à 82,79% puis des spécialités chirurgicales à 69,62% . Les autres BMR suivent dans le même ordre avec des taux presque similaires, SARM 31,67%, entérobactéries BLSE+ 27,17% et *Pseudomonas aeruginosa* 13,97%.

Sa résistance aux molécules des trois familles  $\beta$ -lactamines, Aminosides et quinolones est en progression et est pour la Ceftazidime de 90,05%, l'imipénème de 80,50%, Amikacine de 73,77% et ciprofloxacine de 85,41% **(169)**.

De même une revue d'articles concernant la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatifs en Algérie publiée en 2014, indique que la résistance aux carbapénèmes en Algérie de l'espèce *Acinetobacter baumannii* est

dominée par les carbapénèmases type oxacillinases 23, alors que l'émergence des carbapénèmases type NDM1 est d'apparition plus récente. Cette étude indique également que les BLSE chez les entérobactéries sont de type CTX-M, CTX-M3 ou CTX-M15 associé à une méthylase ArmA le plus souvent laquelle confère un haut niveau de résistance aux aminosides chez les salmonelles sp **(185)**.

Plusieurs études menées sur des souches Algériennes d'*Acinetobacter baumannii* confirment la prédominance des oxacillinases 23 comme principales carbapénèmases, mais aussi d'autres oxacillinases 24, 72 et 58 sont retrouvées à des proportions plus faibles **(110)(109)(111)(108)**.

Des souches hébergeant les carbapénèmases NDM1, associées aux méthylases ArmA sont également rapportées en 2015 sur des souches Algériennes, de même une première souche résistante à la colistine est décrite dans l'algérois **(134) (116)**.

### **VIII.1.2. *Acinetobacter* sp. au Moyen orient, bassin méditerranéen, Asie du Sud Est.**

Plusieurs études menées en Arabie Saoudite, Jordanie, Egypte, Turquie Grèce, Italie, et Chine publiées très récemment rapportent toutes la multi-résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques dominés par l'oxacillinase 23, suivie de près par l'oxacillinase 24.

**(186)(187)(188)(189)(190)(191)(192)**.

Toutes ces études indiquent l'isolement de ces souches principalement des soins intensifs.

La figure 20 ci-dessous indique la répartition mondiale de celles-ci.



**Figure 20. Cartographie de la dissémination mondiale du gène *bla*<sub>OXA-23</sub>, juillet 2011.** Samy Figueiredo. *Acinetobacter* sp. et réservoir de gènes de carbapénémases. Human health and pathology. Université Paris Sud - Paris XI, 2011(7).

### VIII.2.Epidémiologie de la clonalité d'*Acinetobacter baumannii*

Plusieurs études dans le monde rapportent la diffusion mondiale de ces oxacillinasés 23, lesquelles pour la plupart décrivent leur appartenance au clone international II (ou 2), appelé également clone européen 2 mais aussi complexe clonal 92 (CC92).

L'établissement de cette phylogénie fait appel à des techniques de biologie moléculaire de génotypage, qui permettent de les y relier telle que la technique MLST (Multi Locus sequence typing), et la séquence base typing *bla*<sub>oxa51</sub> (SBT *bla*<sub>oxa51</sub>) (159).

La MLST donne des Séquences Type ST, la deuxième technique donne des variants d'oxacillinasé naturelle 51 appelés oxa-type.

Toutes les études, (dont deux) Algériennes(134) (116), Libanaise (193), Grecque(190), Chinoise (192), décrivent la propagation et diffusion mondiale

des souches oxacillinases 23 ayant comme séquence type : ST2 ou oxa-type : oxacillinase 66, les classant ainsi dans le clone international 2, Un deuxième clone domine au niveau mondial de manière moindre, c'est le clone international 1 lequel inclut le clone européen I. Plusieurs autres clones existent ou complexes clonaux, les plus fréquents sont ceux cités ci-dessus **(43)**.

Les premières souches, NDM1, sont décrites en Algérie en 2012, isolées chez des patients transférés en France et Belgique en 2011, la première présente une oxacillinase type 94, qui l'affilie à un clone singleton différent des deux clones I et II, alors que la deuxième a une oxa-type 64 différente appartient au clone international 7 **(132)(133)**.

Une similitude avec une étude libanaise en 2014, rapporte des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées chez des réfugiés syriens résistantes à l'imipénème hébergeant toutes une carbapénémase type NDM1, l'oxa-type 51 associée est une oxacillinase 94 également, oxa-type similaire à la souche NDM1, isolée pour la première fois d'Algérie **(194)**.

### **VIII.3.Rappels sur les Infections Associées aux Soins (IAS)**

#### **I.3.1 Définition (195)**

Infections survenant au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge.

Si l'état infectieux n'est pas connu au début de la prise en charge, un délai d'au moins 48 heures ou un délai supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une IAS.

Pour les infections du site opératoire (ISO), sont considérées comme IAS, les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou, s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention.

L'IAS comprend l'infection nosocomiale (IN), au sens de contracter une infection dans un établissement de santé (ES), et concerne aussi les soins délivrés en dehors des ES.

Ces infections associées aux soins ne sont pas une fatalité, elles sont évitables et leurs prévention s'inscrit dans une démarche globale de gestion des risques hospitaliers et de la qualité des soins **(196)**.

### **VIII.3.2. Epidémiologie des IAS chez *Acinetobacter baumannii*.**

#### **- Transmission des IAS**

Pour qu'une infection survienne, il est nécessaire qu'existent :

- un réservoir et/ou une source de micro-organismes, un mode de transmission et des conditions favorables au développement de l'infection chez un patient récepteur (hôte).

#### **- Réservoir d'*Acinetobacter baumannii***

C'est le lieu habituel et permanent où le micro-organisme persiste et se multiplie

*A. baumannii* est une bactérie saprophyte, pathogène opportuniste, Cette espèce a une survie prolongée dans l'environnement, qui constitue alors un réservoir secondaire pour la transmission.

En effet, *A.baumannii* est doté d'une très grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique, chose qui lui permet de persister dans un environnement même hostile.

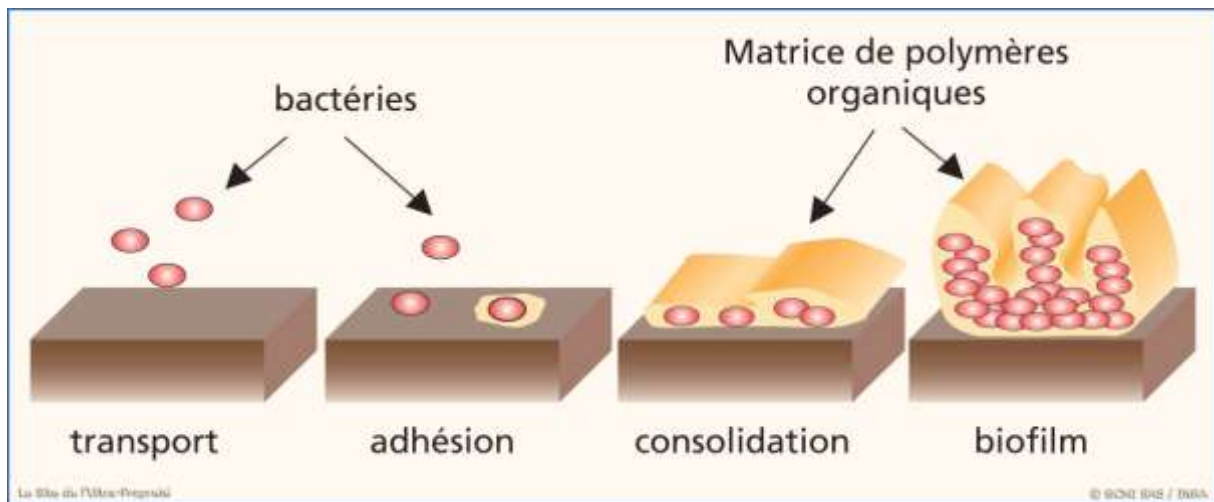
Cette bactérie est capable de survivre sur des surfaces sèches et humides pendant des périodes très longues (quelques semaines) **(197)**.

*Acinetobacter baumannii* a une capacité de survivre en formant des biofilms.

Un biofilm est une communauté multicellulaire de microorganismes adhérant entre eux et à une surface (dispositifs médicaux, bacs de transport, surfaces), marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice qui se forme généralement en milieu aqueux.

Chez *Acinetobacter baumannii* une étude en 2015, a mis en évidence des gènes *bap*, *csu locus*, *bfm RS* et *pgA locus* codant pour la synthèse de biofilm

sur des souches essentiellement isolées de l'environnement hospitalier associés à une carbapénémase type oxacillinase 23 **(43)**.



**Figure 21. Représentation de la formation d'un biofilm** (Ultraproprete.com BCMS SAS/INRA

De nombreux foyers peuvent être à l'origine des épidémies à *A.baumannii*, les sources les plus courantes : ventilateurs, l'équipement d'aspiration, matelas, oreillers, humidificateurs, barrières de lit, table de chevet, les contenants de l'eau distillée, bouches de collecte d'urine, les équipements de nutrition par voie intraveineuse, eau potable, transducteurs réutilisables de pression artérielle, le boutons des électrocardiographes, des lavabos, des pompes à perfusion, éviers, bandages hygroscopiques, douches, chariots en acier inoxydable, matériel de réanimation et de tables, dispositifs d'accès, équipements de radiologie mobile, linge de lit, distributeurs de savon, spiromètres, sondes de température et les nébuliseurs multi dose, rideaux, stéthoscopes, des claviers de l'ordinateurs **(198)(199)**.

### **-Réservoirs humains d'*Acinetobacter baumannii***

Les IAS d'origine endogène sont les plus fréquentes.

Le patient s'infecte par sa propre flore. Cette flore peut être primaire que le patient porte à son arrivée à l'hôpital, ou modifiée, dite secondaire, acquise

lors du séjour à l'hôpital ou lors de la prise en charge. Dans ce cas, une colonisation par la flore secondaire précède généralement l'infection : il s'agit d'abord d'épidémies de colonisation, plus que d'épidémies d'infections.

Le site de dépistage d'*Acinetobacter baumannii* chez les patients se fait au niveau rectal, gorge ou aspiration trachéale.

- ✓ **Modes de transmission d'*Acinetobacter baumannii***

- ✓ **Transmission croisée**

- ✓ **Définition**

Elle est définie comme étant la transmission de certains micro-organismes (bactéries, virus, champignons) de patient à patient, de l'environnement à un patient.

- **Transmission croisée par contact direct**

C'est le mode de transmission essentiel des agents infectieux à l'hôpital, rarement directe entre patients, plus souvent par les mains contaminées des soignants et de l'hôte (transmission par manuportage), soit à partir d'un patient réservoir (ou son environnement immédiat).

La transmission croisée concerne les souches résistantes ou sensibles aux antibiotiques.

La transmission indirecte suppose que l'agent infectieux survit longtemps sur des surfaces inertes ce qui est le cas pour *Acinetobacter baumannii*, qui est agent infectieux « à haut potentiel de transmission croisée »

Le manuportage pour cette espèce est la voie de transmission la plus fréquente. La transmission croisée par contamination des mains du personnel a été largement démontrée dans de nombreuses études réalisées au cours des épidémies à *A baumannii*.

Expérimentalement, *A baumannii* est capable de survivre plus longtemps sur les doigts que d'autres bacilles à Gram négatif, y compris *Pseudomonas aeruginosa*. Le taux de manuportage étudié parmi le personnel en période épidémique varie de 9 à 32% **(200)**.

La présence d'*A.baumannii* dans l'air n'a pu être démontrée que dans un environnement de patients hautement colonisés et ou infectés.

La voie aérienne peut jouer un rôle par l'intermédiaire des aérosols produits par les nébuliseurs ou dans l'environnement proche des patients ventilés, colonisés ou infectés à *Acinetobacter*. Ce processus de transmission n'a pas été réellement démontré, mais l'on peut supposer qu'il joue un rôle lorsque l'inoculum est important **(200)**.

### **VIII.3.3.Facteurs de risques d'acquisition d'*Acinetobacter baumannii***

D'autres facteurs peuvent intervenir comme l'environnement proche du patient. Ainsi, plusieurs études ont montré le rôle des procédures dans l'acquisition de BMR tel qu'*Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème : intubation, ventilation mécanique, cathétérisme, intervention chirurgicale. Cependant, les degrés d'exposition à ces procédures peuvent être corrélés avec le degré de sévérité de la maladie **(201)(202)**.

Les principaux facteurs de risque d'acquisition des infections à *A baumannii* sont **(198)**:

- prématurité ;
- patients fragilisés : mucoviscidose, grands brûlés ;
- procédures: chirurgie, cathétérisme, ventilation mécanique, dispositifs invasifs;
- antibiothérapie antérieure : carbapénèmes, fluoroquinolones, céphalosporines de troisième génération, aminoglycosides ;
- transfusion ;
- solutions parentérales contaminées ;
- circonstances d'hospitalisation : durée d'hospitalisation ;
- immunodépression : corticothérapie, immunosuppresseurs, VIH ;

Il a, par ailleurs, été constaté une variation saisonnière de ces infections nosocomiales, avec une prédominance au cours des mois de l'été. Cette tendance serait liée à la chaleur et à l'humidité de l'air qui favoriserait la

croissance d'*A. baumannii* dans son habitat naturel, mais aussi au manque de personnel en été.

Plusieurs études menées à travers le monde ont reliées les modes de transmission et facteurs de risque d'acquisition d'*Acinetobacter baumannii*.

En effet, Une étude a été effectuée en France dans une unité de réanimation polyvalente d'adultes **(203)**. L'étude a montré trois facteurs de risque prédictifs d'acquisition des infections nosocomiales à *A. baumannii* : un score de sévérité élevé à l'admission, une augmentation de la durée de séjour et l'utilisation de la ventilation mécanique. Une durée de séjour prolongée dans l'unité de réanimation fut le seul facteur associé à une infection secondaire, quant à la mortalité elle fut attribuée au score de sévérité élevé à l'admission **(204) (205)**.

L'existence d'un matériel contaminé responsable de la transmission a souvent été démontrée dans les épidémies à *Acinetobacter*. Ce type de contamination a largement diminué, surtout avec l'utilisation plus large de matériel à usage unique.

- ✓ Une étude rétrospective a été faite à l'hôpital Tahar Sfar de Mahdia en Tunisie durant la période allant de 2006 à 2008, vis-à-vis des antibiotiques les plus fréquemment prescrits. Au cours de la période d'étude, 368 souches d'*A.baumannii* ont été isolées et identifiées en utilisant les techniques conventionnelles de bactériologie. Ces souches ont été isolées surtout chez des malades hospitalisés dans les services de réanimation (71 %) et de chirurgie (18 %). L'évolution du nombre d'isolats des souches d'*A.baumannii* par année pendant les années 2006, 2007 et 2008, était répartie comme suit : 148, 124 et 96 souches respectivement. Pendant cette période, il a été constaté une diminution du nombre de souches d'*A.baumannii* isolées dans les prélèvements respiratoires, les pus profonds et superficiels, les dispositifs invasifs et les hémocultures, en revanche, ce nombre était stable dans les ponctions **(172)**.

## CHAPITRE VIII : EPIDEMIOLOGIE

---

- ✓ Une autre étude marocaine, menée sur 312 patients ayant présenté une infection nosocomiale due à *A.baumannii* au cours de leur hospitalisation dans les trois services de réanimation du CHU HASSAN II de Fès, sur une période de 36 mois allant de janvier 2009 au décembre 2011. Il en ressort que 4% des patients hospitalisés plus de 48 heures dans une unité de réanimation ont contracté une infection à *A.baumannii* durant l'année 2009. Pour l'année 2010, le taux était de 5,7%. Le taux d'infections à *A.baumannii* a continué à augmenter puisque durant l'année 2011, on a enregistré un taux de 9,9% **(206)**.
  
- ✓ Une étude récente marocaine effectuée, à l'hôpital universitaire militaire Mohammed V faite entre 2012 et 2013, publiée en 2017, visant à surveiller l'origine des bactériémies en soins intensifs a révélé que dans 33% des cas, elle avait une source pulmonaire avec comme étiologies les bacilles à Gram Négatifs, dominé par *Acinetobacter baumannii* à 30%, cette étude évoque l'activité surchargée du personnel en soins intensifs, comme principal facteur de risque de contamination des patients **(170)**.
  
- ✓ En Afrique précisément, à Madagascar (Antananarivo) une étude entre 2006 et 2009 visant à collecter *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème et en étudier les mécanismes génotypiques a révélé 53 souches qui représentaient 44% de leur isollements ce qui a suscité des interrogations quant au mode d'acquisition de cette résistance vu qu'à cette période l'Imipénème n'était pas utilisé dans les hôpitaux de Madagascar **(207)**.
  
- ✓ En Arabie saoudite et plus précisément à la Mecque, une étude menée en 2012 (publiée en 2017) dans un des hôpitaux, visant à déterminer les facteurs de risque d'infection par *Acinetobacter baumannii* multi résistant aux antibiotiques a révélé que l'hospitalisation en soins intensifs, ainsi que l'exposition des patients aux procédures invasives constituaient les principaux facteurs de risque de l'infection par cette bactérie **(208)**.

- ✓ En France, l'analyse rétrospective des SIN (signalement réglementaire des infections nosocomiales) reçus à l'Institut de veille sanitaire entre le 1<sup>er</sup> août 2001 et le 31 mai 2011 montre une nette augmentation du nombre annuel de signalements pour ABRI (les infections/colonisations à *A.baumannii* résistant à l'imipénème). Sur 10 288 signalements reçus sur la période, 343 (3,3%) impliquaient des ABRI. Les signalements pour ABRI représentaient entre 2 et 3% de l'ensemble des SIN reçus de 2003 à 2008, 3,2% en 2009, 5,1% en 2010 et 11,1% sur les cinq premiers mois de 2011. Les sites les plus fréquemment rapportés étaient les infections respiratoires (37%), les bactériémies/septicémies (18,9%) ou les infections urinaires (12,6%) **(209)**.
  
- ✓ La transmission inter hospitalière et le haut potentiel de transmission croisée d'*Acinetobacter baumannii* a été mis en évidence lors d'une étude rétrospective menée en Espagne concernant l'année 2009, et publiée en 2016. L'étude s'était fixée comme objectif de déterminer l'origine des isolats, totalement résistants aux antibiotiques (XDR). Sur un total de 48 isolats, 18 souches étaient sensibles soit 53%, 6 soit 18% étaient multi résistantes, et 10 soit 29% étaient totalement résistants aux antibiotiques, 9 des 10 souches étaient isolées de patients transférés d'autres hôpitaux, ceux-ci avaient 17 jours de durée médiane d'hospitalisation dans l'hôpital d'origine et d'une journée dans l'hôpital d'étude. six patients sur 10 avaient une culture positive le jour de l'admission sachant qu'ils avaient été mis en isolement à l'admission. l'étude de génotypage a mis en évidence deux clones distincts, géographiquement associés à deux régions différentes d'Espagne, ce qui a démontré la transmission inter hospitalière, de cette bactérie mais aussi l'intérêt d'effectuer des prélèvements à l'admission de patients transférés et de leur isolement dès l'admission **(210)**.

## CHAPITRE VIII : EPIDEMIOLOGIE

---

- ✓ Aux Etats-Unis ainsi que d'autres pays comme la France, Allemagne ; l'Angleterre la fréquence des infections nosocomiales causée par ce germe a augmenté. En Suisse une épidémie due à une souche multi résistante a été décrite dans un service de soins intensifs au début des années 80(6) de même une épidémie d'infection et colonisation à BLSE+ (dans la région Nord Pas de Calais en octobre 2003) est décrite en France ou quatre établissements du département du nord ont contracté une infection nosocomiale à *Acinetobacter baumannii* ou 23 patients sont concernés dont 8 en sont décédés à la date de signalement **(4)**.

La pneumopathie acquise sous ventilation est la manifestation la plus fréquente des infections nosocomiales dues à *A.baumannii*. Des données du système de surveillance nationale des infections nosocomiales aux USA, ont montré une augmentation du nombre de cas de pneumopathies nosocomiales associées à *A. baumannii*, avec un taux de 5 à 10% des cas de pneumopathies recensées. *A.baumannii* se range au 10<sup>ème</sup> rang des organismes les plus fréquemment impliqués dans les bactériémies nosocomiales aux Etats-Unis, avec un taux de 1,3% de toutes les bactériémies **(211) (212)**.

## CHAPITRE IX

---

**Traitement des infections à  
*Acinetobacter baumannii* :**  
-Aspect thérapeutique  
-Aspect préventif

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IX. Traitement des infections à *Acinetobacter baumannii*

Malgré le nombre important de familles d'antibiotiques et de molécules disponibles, le choix d'une antibiothérapie pour une infection nosocomiale à *A.baumannii* reste restreint et les options sont limitées en raison de sa multirésistance, facteur d'échec thérapeutique.

Lors du traitement d'une infection à *A. baumannii*, on doit tenir compte de la localisation de l'infection, de l'exposition préalable aux antibiotiques, de la fragilité du terrain mais surtout des résultats de l'antibiogramme qui lui seul peut indiquer l'antibiotique adéquat. Lequel doit figurer dans la nomenclature nationale.

Les infections causées par des souches d'*A. baumannii* sensibles aux antibiotiques sont habituellement traitées par des céphalosporines de 3ème génération ou par l'association  $\beta$ -lactamines - inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (association incluant le sulbactam), ou par les carbapénèmes. Ces antibiotiques sont utilisés en mono ou en bithérapie associés aux aminosides. **(213).**

Il n'existe pas actuellement de consensus sur le traitement des infections à *A.baumannii* multirésistants dans le monde. Cinq classes d'antibiotiques sont actives: les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, les carbapénèmes, la tigécycline, les aminoglycosides et les polymyxines.

#### IX.1.Aspect thérapeutique :

##### IX.1.1.Le Sulbactam

Le sulbactam est un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase ayant *in vitro* une activité bactéricide intrinsèque contre de nombreuses souches du genre *Acinetobacter* y compris des souches multirésistantes. Cette molécule a montré son efficacité dans des infections dues à des souches d'*A.baumannii* modérément résistantes à l'imipénème. Dans ce contexte, l'association ampicilline-sulbactam a été proposée comme un traitement efficace et peu coûteux **(213).**

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IX.1.2.La Tigécycline :

la tigécycline, premier antibiotique de la classe des glycylicyclines, est considérée comme une alternative vis-à-vis d'*A.baumannii* résistant aux carbapénèmes malgré son action bactériostatique et le risque de survenue de surinfections (surtout lors d'une monothérapie) par des pathogènes ayant une résistance intrinsèque à la tigécycline . Les récentes études cliniques montrent une efficacité satisfaisante **(214) (215)**.

Les résultats de l'étude européenne TEST (The Tigecycline évaluation and surveillance trial) menée de 2004 à 2006 révèlent que peu d'antibiotiques sont actifs sur les souches d'*A.baumannii* ; aucun agent antimicrobien testé n'était actif sur tous les isolats provenant des cinq pays participants (France, Allemagne, Royaume-Uni, Espagne, Italie). La tigécycline était la seule molécule dont les CMI se maintenaient à des concentrations basses (CMI<sub>90</sub> ≤ 1 mg/L) **(216)**. Ainsi cette molécule s'avère être un traitement des infections dues aux souches d'*A.baumannii* résistantes aux carbapénèmes, et l'on gagnerait à l'inclure dans la nomenclature Algérienne.

### IX.1.3. La Colistine :

La colistine (ou polymyxine E) a une bonne activité in vitro vis-à-vis de la plupart des bactéries à Gram négatif. Une étude réalisée chez des patients présentant une pneumopathie acquise sous ventilation assistée a montré que l'administration de doses adéquates toutes les 8 heures entraînait des concentrations plasmatiques de colistine apparemment sub-optimales et indétectables dans le liquide broncho-alvéolaire **(217)**.

Cependant, l'étude la plus importante réalisée à ce jour sur la colistine IV montre que celle-ci a une efficacité considérable qui dépend de la dose quotidienne et du site de l'infection (chez des patients de réanimation d'âge moyen 61 ans, traités pour une infection à germes multirésistants : *A. baumannii* pour 65,9 % des cas et *P. aeruginosa* pour 26,4 % des cas). De plus, les effets indésirables du traitement étaient acceptables avec la survenue

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

d'une néphrotoxicité dans seulement 10 % des cas **(218)**. La colistine peut aussi être administrée sans risque par inhalation chez des patients souffrant de pneumopathie nosocomiale ou bien en intrathécal chez des patients atteints de méningite.

### **IX.1.4. La Rifampicine :**

La rifampicine seule ou associée à l'imipénème ou sulbactam a prouvé son efficacité dans le traitement de la pneumopathie murine induite par des souches d'*A.baumannii* panrésistants **(219)**.

Malgré le petit nombre de cas (étude rétrospective de 10 patients), l'étude de Song et al. suggère que l'association colistine-rifampicine est efficace pour le traitement des pneumopathies acquises sous ventilation causées par des souches d'*A.baumannii* résistantes aux carbapénèmes avec une résistance de bas niveau à la rifampicine (CMI  $\leq$  16 mg/L) **(220)**.

Toutefois en Algérie, cette molécule est réservée au traitement antituberculeux ce qui fait que cette alternative n'est pas viable.

### **IX.1.5. Nouveaux agents thérapeutiques : peptides**

Une série de nouvelles molécules, y compris les produits naturels et les nouvelles substances chimiques de synthèse, sont constamment dépistés pour examiner leur activité contre *A baumannii*, des résultats variables ont été obtenus.

Le groupe le plus étudié est celui des peptides :

Les peptides antimicrobiens sont également une alternative à l'antibiothérapie classique.

Ces peptides sont sécrétés dans le sang lors d'une infection bactérienne chez les invertébrés et constituent leur principal système de défense. Ils existent aussi chez l'homme où ils viennent suppléer le système immunitaire. Ces peptides tuent les microorganismes en perméabilisant leur membrane par un effet de type détergent qui peut être accompagné de la formation de pores. Ce mécanisme d'action, original par rapport aux antibiotiques classiques, est très rapide, concentration dépendant et indépendant de l'interaction avec une cible

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

moléculaire unique, ce qui devrait limiter l'apparition de phénomènes de résistance **(213)**.

- ✓ Le rBPI2 et cécropine PI : deux peptides cationiques antimicrobiens membrane active ont été utilisés pour inhiber la croissance d'A *baumannii*. Le rBPI2 est une forme recombinante du domaine N-terminal de la protéine humaine, son rôle est d'augmenter la perméabilité des protéines (bactéricide). Le cécropine est un peptide antibactérien. L'application de ces agents dans le traitement des infections graves à *Acinetobacter* dont la clinique n'est pas encore définie **(222)**.
- ✓ Le cécropine A melittine : peptide hybride pourrait être une chimiothérapie alternative pour *Acinetobacter* sp résistant à la colistine. **(223)**.
- ✓ La buforin II : exerce une forte activité antimicrobienne, une amélioration du taux de survie, et enfin, réalise une réduction significative des endotoxines plasmatiques et les concentrations de cytokines. En outre, la synergie de la buforin II avec rifampicine a été observée. Il semble que la buforin augmente la perméabilité membranaire facilitant ainsi la pénétration des solutés hydrophobes imperméables tels que la rifampicine.
  - ✓  $\beta$ -défensine 2 humaine (hpD2) : peptides cationiques et amphipathiques qui exercent un effet antibactérien, par création de pores ou par perturbation de la membrane cellulaire des organismes cibles, conduisant à la libération de leur contenu cellulaire, et finalement, la destruction de la cellule par osmose **(153)**.

hpD2 est un peptide endogène du système immunitaire inné et peut-être moins toxique que d'autres molécules telles que la Polymyxine. En plus de leur activité antibactérienne orienté, les défensines ont le potentiel de neutraliser les endotoxines bactériennes par liaison directe et l'inactivation des

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

lipopolysaccharides, empêchant ainsi la capacité des endotoxines à provoquer un choc. En outre, en raison de leur capacité à former des canaux dans les membranes lipidiques, les défensines facilitent la pénétration des médicaments hydrophiles (153).

### **IX.1.6.Autres**

La plupart des traitements sont expérimentaux proposés in vitro sous forme d'associations.

**IX.1.6.1.Colistine et vancomycine** : une association in vitro de trois antibiotiques (Sulbactam, Netimicine et vancomycine) avec la colistine chacun, sur dix souches d'*A baumannii* multirésistant a révélé une synergie sur neuf des dix souches avec l'association vancomycine-colistine, alors que l'effet synergique bactéricide était possible que pour une souche avec la Netilmicine, et cinq souches avec le Sulbactam (224).

Cette association colistine et vancomycine a été testée in vivo sur des patients en réanimation en évaluant l'effet bénéfique et en traitant avec la colistine seule, aucun effet bénéfique n'a été constaté sinon, l'altération de la fonction rénale (225).

**IX.1.6.2.Colistine et rifampicine** : une étude randomisée a comparé le traitement de patients infectés par *A baumannii* multirésistant avec la colistine seule et associée à la rifampicine et a conclu qu'il n'y'avait aucun bénéfice à user de cette association (226).

**IX.1.6.3.Association méropénème et monasulfactam (BAL30072)** : une étude menée sur une collection de souches de bacilles à Gram négatif multirésistants (entre autres *Acinetobacter baumannii*) aux antibiotiques a révélé in vitro une très bonne activité synergique bactéricide (227).

**IX.1.6.4.Colistine et tigécycline** : une étude a montré que parmi les associations utilisées in vitro sur des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées d'hémocultures sur huit ans, cette association est celle pour laquelle les souches ont développé le moins rapidement une résistance (après 4 ans) (228).

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### **IX.1.6.5.Sulbactam et carbapénèmes (Méropénème ou Imipénème)**

Une autre étude in vitro a prouvé que cette association, avait révélé une activité synergique bactéricide sur 50% des souches initialement résistantes aux carbapénèmes, cependant cette étude doit être complétée par une étude clinique **(229)**.

**IX.1.6.6.Chloramphénicol et colistine:** cette étude rapporte un bon effet bactéricide et synergique sur des BMR cependant l'aspect toxique du chloramphénicol n'a pas été évalué **(230)**.

**IX.1.6.7.Colistine ou Polymixine B:** cette étude propose à ce que les polymyxines soient prescrites quand une infection est signalée à *Acinetobacter* sp., mais toujours associées à un autre antibiotique afin de préserver l'activité des polymyxines, les polymyxines B étant moins néphrotoxiques que la colistine **(231)**.

### **IX.2.AUTRES MOYENS**

**IX.2.1.Activité pro-biotiques de *Bacillus subtilis*** : par transplantation fécale a donné des résultats prometteurs **(232)**.

**IX.2.2.Transplantation fécale** : activité pro-biotique de *Lactobacillus plantarum* and *Lb. fermentum* isolé de selles de nouveaux nés qui ont prouvé une bonne efficacité in vitro **(233)**.

### **IX.2.3.Phagothérapie**

La phagothérapie, qui consiste à utiliser un virus bactérien (bactériophage ou phage) pour tuer une bactérie, est également considérée comme une alternative thérapeutique prometteuse. Cette technique ancienne a été dans une large mesure abandonnée dans le monde occidental après la découverte des antibiotiques. Toutefois, la recherche sur les phages s'est poursuivie tant en Pologne qu'en Russie, où les infections résistantes aux antibiotiques ont, semble-t-il, continué d'être traitées avec succès au moyen de phages vivants ou de produits de phages **(153)**.

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

L'utilisation de phage AB2 en aérosols mélangé aux désinfectants usuels pour la désinfection terminale de l'environnement a diminué de moitié le nombre de cas de patients infectés dans un service de réanimation **(234)**.

L'utilisation du phage Abp1, in vitro a révélé une activité sur l'endolysine d'*Acinetobacter baumannii* multirésistant **(235)**.

### **IX.2.4.Vaccination :**

Le traitement des infections causées par *A. baumannii* est devenu de plus en plus complexe en raison de l'émergence des souches hautement résistantes. Le développement d'un vaccin pour *A. baumannii* est compliqué par le fait que l'identification des antigènes immunogènes ne soit pas encore établie. Des cellules bactériennes inactivées et atténuées ont été utilisées pour le développement d'un certain nombre de vaccins en raison de leur capacité à stimuler les réponses immunitaires robustes et protectrices.

En outre, des vaccins à base des cellules entières peuvent stimuler une réponse contre les antigènes multiples, ce qui peut être important pour assurer une protection contre une large gamme de souches d'une espèce bactérienne. **(236)**.

D'autres vaccins basés sur l'antigène capsulaire K n'ont pas donné de bons résultats. de même les vaccins basés sur le LPS, lipopolysaccharides très immunogène est impossible vu *qu'Acinetobacter baumannii* possède un lipooligosaccharide très peu immunogène **(43)**.

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

### IX.3.Aspect préventif

#### IX.3.1.Lutte contre *Acinetobacter baumannii* basée sur l'utilisation des bonnes pratiques en hygiène hospitalières (195).

##### IX.3.1.1.Moyens de lutte :

Les moyens de lutte et de la rupture de la chaîne de transmission de cette bactérie passeront par l'application de précautions définies et codifiées quand il s'agit d'un patient infecté, ou d'un patient immunodéprimé à protéger de patients infectés qui sont :

- les précautions standards qui comportent entre autre l'hygiène des mains dont les étapes principales sont détaillées en annexe 11(196).  
-les précautions complémentaires type contact (PCC) lesquelles complètent les précautions standards qui sont :

- les précautions complémentaires septiques : empêchent un patient infecté de contaminer les autres patients. (voir annexe 11)
- les précautions complémentaires aseptiques : empêchent un patient immunodéprimé d'être infecté par un environnement ou patient infecté. (Voir annexe 11).

Vu le haut potentiel de transmission croisé d'*Acinetobacter baumannii*, et de sa capacité à persister dans l'environnement hospitalier d'autres mesures sont à prendre (afin de casser sa chaine de transmission) qui sont :

- le dépistage des sujets contacts définis comme étant tous les patients pris en charge par la même équipe soignante qu'un patient porteur d' *Acinetobacter baumannii* multirésistant aux antibiotiques (237).
- Le contrôle environnemental autour du patient infecté, par des prélèvements renouvelés dans le temps (237).

Quand l'environnement est contaminé un bio nettoyage suivi d'une désinfection ou stérilisation terminale doit être effectué. (Voir le principe en annexe 11)(196).

L'exemple pris est celui du bionettoyage dans un service de réanimation.

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

Le bionettoyage doit être réalisé correctement comportant les étapes de détergence (visant à désincruster les biofilms), essuyage et désinfection des surfaces.

La stérilisation terminale au peroxyde d'hydrogène semble prometteuse. (Pratiquée lors de notre étude : voir annexe 12)

Les dispositifs médicaux, sources de contamination tels que les respirateurs et leurs tuyauteries, (ou autres) en soins intensifs doivent être soumis à une stérilisation après chaque utilisation afin d'empêcher la transmission des germes entre les patients.

### **IX.3.1.2.Rappels généraux sur la stérilisation : (238)**

La stérilisation, maillon incontournable de l'hygiène, est un acte de soins indirect. Elle participe à la lutte contre les infections nosocomiales, en empêchant les dispositifs médicaux (DM) de jouer leur triple rôle de réservoir, de transporteur et d'inoculateur de microorganismes aux patients.

#### **IX.3.1.2.1.La stérilisation hospitalière (238)**

##### **IX.3.1.2.1.1.Définition de la stérilisation et procédés:**

C'est la mise en œuvre d'un ensemble de méthodes et de moyens, visant à éliminer tous les micro-organismes vivants de quelque nature que ce soit et sous quelque forme que ce soit, portés sur un objet ou une surface parfaitement nettoyée.

- **procédés**

##### Stérilisation à haute température

- Stérilisation par la vapeur d'eau d'autoclave

##### Stérilisation à basse température

- Stérilisation en phase plasma Sterrad® : au peroxyde d'hydrogène
- Stérilisation par l'oxyde d'éthylène
- Stérilisation par le formaldéhyde
- Stérilisation par les rayonnements ionisants

Ces stérilisations concernent les dispositifs médicaux le plus souvent.

## CHAPITRE IX : TRAITEMENT DES INFECTIONS A ACINETOBACTER BAUMANNII

---

Une stérilisation terminale des surfaces et de l'environnement hospitalier doit être pratiquée en utilisant un désinfectant.

L'exemple du peroxyde d'hydrogène en aérosol est cité en exemple en raison de son utilisation lors de notre étude.

- **Stérilisation au peroxyde d'hydrogène**

- Procédé :**

Méthode de stérilisation à basse température < 60°C par combinaison de vapeur de peroxyde d'hydrogène et du plasma de peroxyde d'hydrogène. Sous leurs actions, les acides nucléiques et la membrane des micro-organismes sont détruits. Le plasma représente 99 % de la matière connue dans l'univers. C'est le quatrième état de la matière, les états connus étant solides, liquides gazeux, l'état plasma étant une forme de la matière gazeuse ionisée.

Celle-ci doit se faire en l'absence de patients, le personnel doit porter une tenue de protection (masque, surblouse...), Un contrôle d'efficacité doit systématiquement être fait à la fin, du procédé.

Son utilisation doit être exceptionnelle ou réservée à certains services tels que les soins intensifs et les urgences, vu que son coût est excessif. (3 à 4 fois plus que celui de la vapeur d'eau)

# CHAPITRE X

---

# METHODOLOGIE

### X. Méthodologie

Notre étude s'est faite en trois étapes

**-Première étape** : collecte, identification des souches, au laboratoire de microbiologie-Parasitologie du CHU de Tizi-ouzou.

**-Deuxième étape** : étude faite au CNR de Besançon, sur 55 souches qui a consisté en une confirmation, identification des souches par PCR, catégorisation des souches phénotypiquement et recherche des gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines et Aminosides, et quinolones par PCR et séquençage des gènes des  $\beta$ -lactamases retrouvées TEM, CTX-M et NDM. (selon la démarche de l'algorithme du CNR en annexe 1)

Une technique de génotypage a été pratiquée au CNR, la MLVA, sur les souches ayant présenté des carbapénèmases Oxacillinase 23.

**-Troisième étape** : à l'IPA (Institut Pasteur d'Algérie), ou pour le reste des souches la même méthode y a été adoptée, confirmation d'identification, catégorisation phénotypique et confirmation génotypique (PCR) pour les  $\beta$ -lactamines, Aminosides et quinolones, le séquençage a concerné le gène NDM.

Les CMI y ont été réalisées pour la colistine, Netilmicine et Imipénème (plus impénème+EDTA) selon les normes CLSI.

Deux techniques de génotypage y ont été pratiqué l'électrophorèse en champs pulsé, et la *bla*<sub>oxa51</sub> Sequence base typing( lancée pour la première fois à l'IPA )

#### X.1.Lieu de l'étude et critères d'inclusions des patients.

La collecte des souches bactériennes d'*Acinetobacter baumannii* a été effectuée au laboratoire de microbiologie-parasitologie du CHU de Tizi-Ouzou (Unité Nedir), à partir de tous les prélèvements émanant de patients hospitalisés dans les différents services.

L'indication du prélèvement est posée par le clinicien, dans un contexte de suspicion d'infection nosocomiale à savoir : suite à une intervention chirurgicale ou autre acte iatrogène invasif type sondage vésical,

cathétérisme, intubation, dialyse péritonéale.

Une fiche de renseignements élaborée a accompagné chaque prélèvement.

**Remarque** : Toutes les souches étaient incluses, aucun critère d'exclusion n'a été défini. Certaines souches conservées ont été exclues car elles n'ont pas pu redémarrer, ou étaient contaminées, ou l'identification d'espèce n'a pas été confirmée.

Deux souches de l'environnement ont été incluses dans cette étude, ce qui a étayé l'origine environnementale de la transmission d'*Acinetobacter baumannii* dans cette étude.

### **X.2.Les prélèvements**

Tous types de prélèvements ont été inclus émanant des services d'hospitalisation.

Sites stériles : LCR (liquide Céphalo rachidien), sang (hémoculture), liquides de ponctions

Sites non stériles : Pus, urines, sphère ORL, selles, sphère génitale.....

### **X.3.Les services :**

Sont :

Urgences : chirurgicales, médicales, Pédiatriques

Soins intensifs : réanimation médicale, réanimation chirurgicale

Services chirurgicaux : viscérale, urologie, traumatologie, neurochirurgie, chirurgie infantile(CCI)

Services médicaux : cardiologie, infectieux, médecine interne, néphrologie, hématologie

Pédiatrie : Pédiatrie 1, Pédiatrie 2, Hémato-pédiatrie, néonatalogie.

### **X.4.Nombre d'échantillons**

Le nombre de souches avait été fixé à 100 souches . Ont été incluses des souches collectées en 2000, 2001, 2010, 2011, 2012 et 2013.

Le nombre fixé a pu être atteint qu'en 2013, les souches collectées sont au nombre de 128. Nous avons dépassé le nombre fixé de 28 souches car ce

n'est qu'en 2013 que nous avons collecté le plus de souches présentant des résistances aux carbapénèmes.

La sensibilité aux antibiotiques des souches de 2000 et 2001 au nombre de 6 a été étudié à part, et exploité à part, ces souches nous ont permis de voir l'évolution des résistances mais aussi, d'effectuer notre étude de clonalité.

### **X.5. Techniques utilisées ou Méthodes**

#### **X.5.1. Identification des souches : identification biochimique et moléculaire**

L'identification biochimique a été faite par les galeries API-NE alors que l'identification moléculaire s'est faite par PCR, par détection de l'oxacillinase naturelle intrinsèque 51 de l'espèce *Acinetobacter baumannii*

#### **X.5.2. Etude phénotypique de l'antibiorésistance : Antibiotypie**

l'antibiotypie des souches identifiées, a été faite par la réalisation d'antibiogrammes par la technique de diffusion en gélose ce qui a permis une classification phénotypique. La caractérisation des gènes de résistance a été réalisée par PCR, et par séquençage pour certains.

Notre démarche suivie est celle du CNR Besançon (Annexe 1) pour *Acinetobacter* et *Pseudomonas*, Centre national Français de référence pour ces deux germes, ainsi que les recommandations et interprétations du CLSI 2016 et CA.SFM 2016.

##### **X.5.2.1. Antibiogramme**

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la technique de diffusion en milieu gélosé (Mueller-Hinton agar, MH, Bio-Rad) selon les règles de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale basée sur les recommandations du CLSI 2016.

Et le comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) 2016 ([www.sfm.asso.fr](http://www.sfm.asso.fr)). La Technique est détaillée en annexe 2. Les disques d'antibiotiques utilisés (Bio-Rad) sont : disposés comme ci-dessous



**Figure 22. Antibiogramme d'une souche d'*A. baumannii* sensible effectué au CNR, et antibiotiques testés. (Antibiogramme pratiqué sur une souche 2134/13 de Tizi-ouzou au CNR)**

(FEP)Céfépime, (PIP)Pipéracilline , (PPT)Pipéracilline/tazobactam, (CTX)Céfotaxime, (TIC)Ticarclilline, (TCC) ticarclilline/acide clavulanique, (CAZ) ceftazidime (MEM) méropénème, (IMP) imipénème (GM), gentamycine ,(TM)tobramycine (ATM)aztréonam (AMC)Amoxicilline/Acide clavulanique (CS) colistine , (CIP) ciprofloxacine (AN),amikacine

Les antibiotiques, rifampicine, tétracycline et Co-trimoxazole sont testés également selon la standardisation nationale(CLSI) (voir annexe 2).

Pour les aminosides, la spectinomycine et streptomycine sont testées en plus afin de détecter phénotypiquement le mécanisme adénylase *aadA*.

### **X.5.2.2.Tests complémentaires phénotypiques**

Des tests phénotypiques complémentaires sont systématiquement effectués pour les souches ayant présenté :

- une diminution du diamètre d'inhibition autour des céphalosporines de troisième génération notamment la ceftazidime <8mm, indique la recherche systématique des  $\beta$ -lactamase à spectre étendu

- une résistance à la ceftazidime : la présence de la cèphalosporinase Amp C est alors suspectée.
- une diminution de diamètre, ou une zone contact autour des disques de carbapénèmes, faisant suspecter, la présence de carbapénèmases.

### **X.5.2.2.1. Recherche des $\beta$ -lactamase à Spectre Etendu (BLSE)**

Selon les recommandations du CLSI (M100-S26), la recherche de la BLSE pour l'interprétation de la sensibilité des entérobactéries, *Pseudomonas* sp. et *Acinetobacter* sp aux céphalosporines n'est plus obligatoire.

La détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

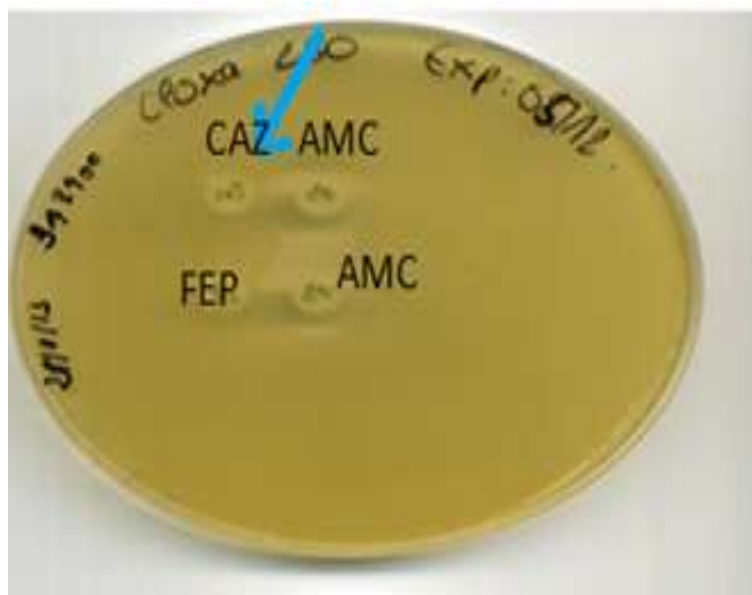
On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes : cefotaxime (CTX à 27mm), ceftazidime (CAZ à 22mm), ceftriaxone (CRO à 25mm), aztréonam (ATM à 27mm).

Selon le CNR de Besançon une diminution du diamètre d'inhibition autour des céphalosporines de troisième génération notamment la ceftazidime <8mm indique la recherche systématique des  $\beta$ -lactamase à spectre étendu.

Le test de détection des BLSE, consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (acide clavulanique) et une céphalosporine de 3<sup>eme</sup> et 4<sup>eme</sup> génération ceftazidime et céfépime (CAZ et FEP), parfois après rapprochement de disques (RDD) .

Le rapprochement de disques ou RDD, se fait entre des disques de ceftazidime (CAZ), céfépime (CFP), chacun avec le disque (AMC) (annexe 3)

La technique du double disque a été pratiquée également (annexe 3)



**Figure 23. Recherche phénotypique de BLSE, par le test de rapprochement de disques de la souche 3900/13(CHU Tizi-Ouzou/CNR)**

Dans ce cas précis il y'a absence de synergie avec l'acide clavulanique de la cétazidime et le cefepime, donc absence de BLSE.

#### **X.5.2.2.2. Recherche de la Céphalosporinase (Case).**

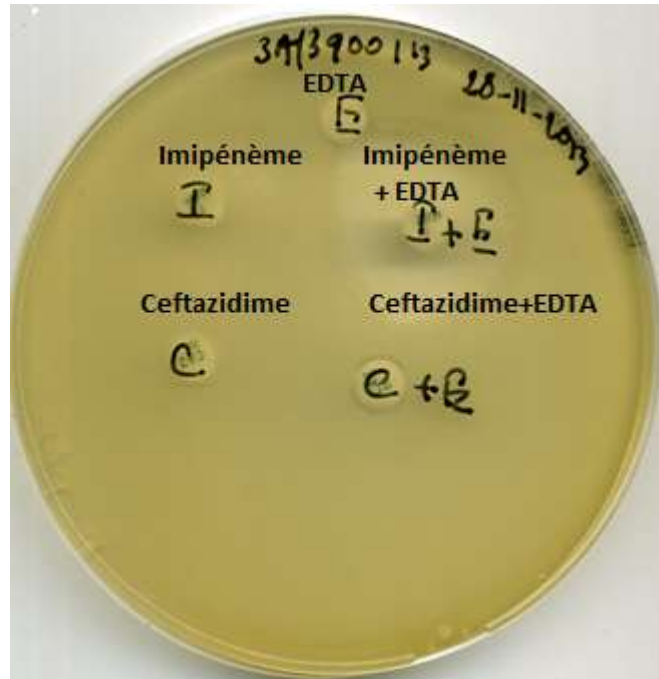
Une résistance à la ceftazidime fera suspecter la présence d'une céphalosporinase AmpC du groupe ADC. Afin de la détecter, la sensibilité de cette souche sera testée sur une même boîte d'antibiogramme citée ci-dessus (figure 23), additionnée de 250 mg/ml de cloxacilline, dans le cas où il s'agit d'une céphalosporinase, celle-ci sera précipitée par la cloxacilline et la sensibilité autour du disque de ceftazidime sera restaurée.

#### **X.5.2.2.3. Recherche des Carbapénèmases.**

Une diminution de diamètre, ou un diamètre contact autour des disques carbapénèmes, fera suspecter, la présence de carbapénèmases, à cet effet, le test phénotypique à l'EDTA permet de desceller les Métallo- $\beta$ -lactamases (MBL). La mise en évidence et différenciation des carbapénèmases suit la démarche CNR Besançon (Annexe 1).

Le Hodge test: confirme la présence d'une carbapénémase, mais ne les différencie pas. Il consiste à observer une synergie entre une souche témoin

positive hébergeant une carbapénémase, et la souche à tester (MBL ou oxacillinase). (Test en annexe 3)



**Figure 24. Recherche de MBL par le test Imipénème+EDTA sur la souche 3900/13 CHU de Tizi-ouzou(CNR)**

Le test de recherche de carbapénémase par le test à l'EDTA associé à L'imipénème révèle la présence d'une carbapénémase type métallo-enzyme (voir la synergie entre imipénème et disque EDTA : flèche)

#### **X.5.2.2.4. Test à l'arbekacine**

Il s'agit d'un test qui permet de mettre en évidence la méthylase, ArmA, mécanisme de résistance aux aminosides le plus fréquent qui entraîne un haut niveau de résistance aux aminosides chez *Acinetobacter baumannii*.

Au CNR de Besançon, un test mis au point (non encore publié) permet de révéler cette résistance, appelé Test à l'arbekacine et permet de sélectionner les mutants car il s'agit parfois d'une résistance hétérogène.

L'arbekacine est un aminoside synthétique proche de la dibékacine, commercialisé en poudre ; une solution de cet antibiotique une fois molaire est appliquée sur un disque de papier buvard de 6mm, lui-même appliqué sur une boîte de Mueller Hinton préalablement ensemencée avec une souche.

## CHAPITRE X : METHODOLOGIE

résistante à tous les aminosides. Gentamicine, tobramycine, amikacine et nétilmicine avec diamètre contact.

Les mutants clairement visibles autour de l'arbekacine, révèlent la présence d'une méthylase ArmA après PCR (voir photos ci-dessous figure 25).

Plusieurs souches parmi nos souches collectées ont révélé ce phénotype de résistance.



**Figure 25. Test à l'Arbekacine pratiqué sur la souche 4474/01 de l'année 2001 au CNR**

### **X.5.2.3. Concentration Minimale Inhibitrice**

Les Concentrations Minimales Inhibitrice CMI ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu gélosé. C'est une méthode quantitative qui permet d'évaluer la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques.

La méthode de l'E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) permet de déterminer la CMI grâce à des bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester (de 0.016 à 256 µg/ml ou de 0.002 à 32 µg/ml selon l'antibiotique).

Les bandelettes sont appliquées sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec un inoculum de la souche à tester. Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse d'inhibition dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. Une échelle de lecture imprimée sur la bandelette permet une interprétation rapide.

Dans cette étude, cette méthode a été pratiquée seulement pour tester la sensibilité aux antibiotiques suivants : carbapénèmes (Imipénème), colistine et netilmicine selon les recommandations du CLSI.

La détection phénotypique et différenciation entre les carbapénémases type Metallo- $\beta$ -lactamases et oxacillinases a été réalisée en testant les bandelettes d'imipénème associé à l'imipénème plus inhibiteur de M $\beta$ L (EDTA).

Le rapport de la valeur de la CMI à l'imipénème sur la valeur de l'imipénème+EDTA, calculé quand il est largement supérieur à 8 indique la présence d'une M $\beta$ L, dans le cas où il est inférieur ou égal à 8 il oriente vers la recherche des autres carbapénémases type oxacillinases.

### **X.5.2.4. Analyses et interprétation phénotypiques des antibiogrammes**

L'interprétation des antibiogrammes a été faite selon les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) publiées dans Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing, twenty- fifth International supplément M100-S26 Janvier 2016.

Afin de réaliser notre étude statistique, nous nous sommes référés au logiciel WHONET 5.6, installé au niveau du laboratoire de Microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou depuis 1999, grâce auquel nous avons pu accéder aux données nécessaires à notre étude.

WHONET 5 dans sa version actualisée 5.6 est un logiciel de création de bases de données microbiologiques, de résultats d'antibiogrammes, de saisie de résultats et de leurs interprétation. Il permet une analyse détaillée de ces données une sauvegarde fidèle des fichiers et un archivage dans un volume restreint. Il assure l'interprétation des résultats et fournit le résumé de toutes

les saisies à tout moment afin de permettre une surveillance plus aisée des résistances.

L'objectif principal de ce logiciel est de standardiser la lecture des antibiogrammes afin que tous les laboratoires communiquent leurs résultats sur le réseau de l'OMS selon un format identique. Le logiciel WHONET 5.6 suit l'évolution de la microbiologie, puisque des modifications sont apportées de façon régulière et actuellement la version 5.6 mise à jour en 2016 est adoptée.

En Algérie le réseau affilié à l'OMS est le réseau Algérien de la surveillance de la résistance aux antibiotiques (AARN : Algérien Antimicrobial Resistance Network) auquel notre laboratoire est affilié.

### **X.5.3. Recherche des gènes de résistance par PCR standard**

La PCR est une technique bien établie qui amplifie, de façon sélective, certaines régions d'ADN génomique en fonction de la liaison d'amorces qui sont propres aux régions en question. Les étapes sont les suivantes :

- **extraction de l'ADN** : voir protocole d'extraction d'ADN : Protocole QIAGEN (voir Annexe 5)
- **vérification de la concentration d'ADN obtenue** :  
par l'appareil Nanodrope (Nanophotometer), marque Implen (voir Annexe 6)

**X.5.3.1. Protocole de la PCR** : il s'agit du protocole CNR pour toutes les PCR *Acinetobacter* (voir Annexe 5 et 6).

Les réactions de PCR ont été réalisées dans un thermocycleur ABI 2700 (Applied Biosystems).

Une réaction de PCR classique comprend :

- une étape de dénaturation initiale de l'ADN double brin pendant 10 min à 95°C.
- cette étape est suivie de 35 cycles d'amplification de l'ADN avec 1 min à 95°C (dénaturation), 1 min à 50-60°C (appariement des amorces,

température variable selon le T<sub>m</sub> des amorces) et 1-5 min à 72°C (élongation, temps variable selon la taille du fragment à amplifier).

- Une étape finale de 10 min à 72°C permet de terminer la synthèse des brins inachevés. (Annexe 5)

La PCR standard était effectuée pour détecter :

**-les  $\beta$ -lactamases :**

- de classe D oxacillinases *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-24</sub>, *bla*<sub>OXA-58</sub>, et l'oxacillinase intrinsèque *bla*<sub>OXA-51</sub>.
- la MBL : *bla*<sub>NDM-1</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>.
- d'autres  $\beta$ -lactamases : *bla*<sub>VEB-like</sub>, *bla*<sub>CTX-Mlike</sub>, *bla*<sub>SHV-like</sub>, *bla*<sub>TEM-like</sub>, *bla*<sub>PER-like</sub> et *bla*<sub>GES-like</sub>.

**-les associations de la séquence d'insertion *ISAb<sub>1</sub>* aux oxacillinases** à savoir : *ISAb<sub>1</sub>-OXA-23*, *ISAb<sub>1</sub>-OXA24*, *ISAb<sub>1</sub>-OXA-51*.

**- les gènes de résistance aux aminosides appelés AME** (Aminoglycoside Modifying Enzymes) à savoir :

- Adénylases (*aac*(3)-Ia, *aac* (6')-Ib, *aadA*)
- Nucléotidyl transferrases(*ant*(2'')-I),
- Phosphorylases (*aph* (3')-VI)
- Méthylases (*armA*).

**- les gènes de résistance aux fluoroquinolones**

- QnrA, QnrB
- les mutations *gyrA* et *ParC*.

La technique de génotypage *bla*<sub>oxa51</sub>SBType, a nécessité en première étape une PCR, par utilisation des amorces Oxa 69.

Des contrôles positifs et négatifs pour chaque gène ont été testés. Les amorces d'oligonucléotides et des sondes utilisées sont énumérées respectivement dans l'annexe 15.

### **X.5.4.Séquençage des gènes de résistance**

Les produits de PCR purifiés ont été séquencés selon la méthode de Sanger modifiée (Sanger, 1977) en utilisant le kit BigDye Terminator chemistry et le séquenceur automatique (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). L'analyse des données a été effectuée à l'aide du Codon Code Aligner 3.7.1.1 sequencing analysis software. Les séquences obtenues sont blastées.

En effet l'outil de recherche d'alignement local de base BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) trouve des régions de similarité locale entre les séquences. Le programme compare les séquences de nucléotides ou de protéines à des bases de données séquentielles et calcule la signification statistique des correspondances.

BLAST peut être utilisé pour déduire les relations fonctionnelles et évolutives entre les séquences ainsi que pour aider à identifier les membres des familles de gènes.

Le séquençage a été pratiqué dans cette étude pour : confirmer l'identification de certains gènes par PCR, notamment les MBL(NDM1), typer les BLSE CTX-M, la Pénicillinase TEM, et typer les variants de l'oxacillinase naturelle 51 lors du génotypage.

(Voir le protocole de purification des produits de PCR, en vue de séquençage en Annexe 7)

### **X.5.5.Recherche d'un lien génétique : génotypage ou étude de clonalité**

Trois techniques ont été pratiqué :

#### **X.5.5.1.Electrophorèse en champ pulsé ou PFGE**

L'électrophorèse en champ pulse (PFGE pour Pulsed-Field Gel Electrophoresis)

Permet de mettre en évidence le polymorphisme génétique de différentes souches bactériennes d'une même espèce.

Cette technique consiste à analyser sur gel d'agarose, les segments d'ADN de grande taille, obtenus après digestion enzymatique de l'ADN total des souches bactériennes. (Voir protocole en annexe 9)

Dans cette étude la PFGE a été pratiquée sur dix neuf souches, présentant des antibiotypes vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines différents, choisies dans les services où *Acinetobacter baumannii* a été le plus isolé.

L'arbre phylogénique ou dendrogramme a été réalisé par la technique de neighbour-joining grâce au logiciel Fingerprinting Biorad.

### **X.5.5.2. Multiple-Locus Variable number of tandem repeat Analysis (MLVA)**

Protocole et principe du CNR :

Principe du protocole : dans un premier temps l'ADN génomique des souches à comparer, est extrait et un certain nombre de VNTR est amplifié dont le nombre varie selon les espèces bactériennes, pour *Acinetobacter baumannii* il est au nombre de neuf.

Les amplicons sont séparés sur un même gel (Agarose et électrophorèse capillaire) les souches identiques (ayant le même nombre de VNTR) migreront aux mêmes positions, La comparaison est visuelle. (Voir protocole en Annexe10).

Cette technique a été pratiquée sur les souches hébergeant les carbapénèmases type Oxacillinase 23 au nombre de vingt huit.

### **X.5.5.3. *bla*<sub>OXA-51</sub> sequence-based typing (SBT)**

La technique consiste en l'amplification par "PCR" du gène de l'oxacillinase naturelle d'*A. baumannii* *bla*<sub>OXA-51</sub>, en utilisant les amorces primers OXA-69A/OXA-69B, les produits de PCR sont purifiés et séquencés en tenant compte de la taille de la séquence du gène qui fait 825pb.

Les séquences obtenues sont comparées aux différent variants présents dans la banque de données mondiale, qui indiquera le variant de la souche étudiée et la positionnera dans les différents complexes clonaux ou clones existants mondialement connus et définis **(43)**.

Cette technique a été pratiquée sur douze souches, choisies avec les mêmes critères que la PFGE.

Les séquences des primers sont :

**OXA-69A** : CTAATAATTGATCTACTCAAG -

**OXA 69B** : CCAGTGGATGGATGGATAGATTATC

### **X.5.6.Etude statistique**

Notre étude statistique s'est portée sur l'évolution des mécanismes de résistance aux trois familles d'antibiotiques :  $\beta$ -lactamines, Aminosides et nouvelles quinolones, mais aussi sur l'évolution de la sensibilité aux molécules d'antibiotiques et cela au fil des quatre années d'étude 2010, 2011, 2012 et 2013.

L'outil statistique utilisé est le test de tendance du KHI2, test approprié pour observer cette évolution. Une valeur de tendance du KHI2 p inférieure à 0,05 indique une évolution significative.

## CHAPITRE XI

---

# RESULTATS

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI. Résultats obtenus sur les souches collectées

#### XI.1. Répartition des souches collectées de 2010 à 2013 par année

Les souches ont été identifiées sur le plan biochimique confirmées par PCR en mettant l'oxacillinase naturelle *bla<sub>oxa51</sub>* en évidence.

**Tableau 8. Nombre et pourcentage de souches collectées**

| Année | N   | %   |
|-------|-----|-----|
| 2010  | 24  | 19  |
| 2011  | 31  | 24  |
| 2012  | 35  | 27  |
| 2013  | 38  | 30  |
| Total | 128 | 100 |

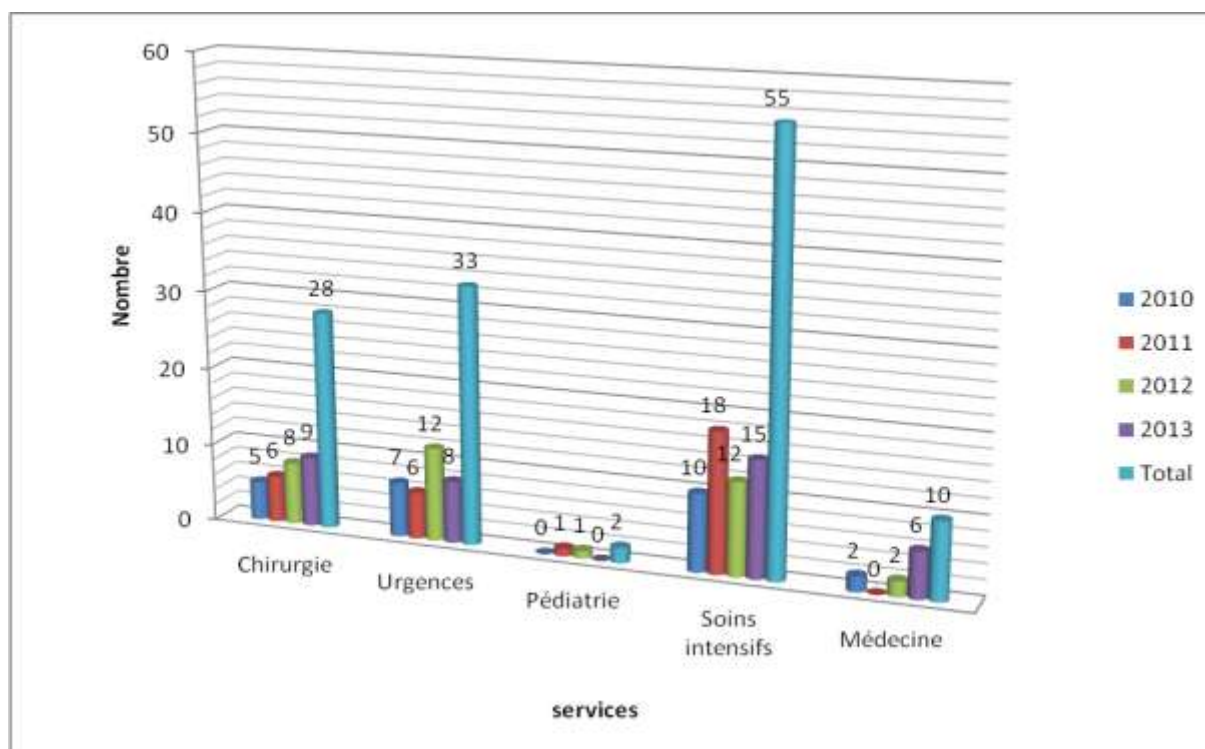
La collecte des souches est progressive au fil des quatre années de l'étude.

#### XI.2. Répartition des souches collectées par spécialité cliniques de 2010 à 2013.

**Tableau 9. Nombre et pourcentage de souches collectées par spécialités cliniques**

| services<br>Années | Chirurgie |           | Urgences  |           | Pédiatrie |          | soins<br>intensifs |           | Médecine  |          | Total     |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|--------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
|                    | N         | %         | N         | %         | N         | %        | N                  | %         | N         | %        | N         |
| 2010               | 5         | -         | 7         | -         | 0         | -        | 10                 | -         | 2         | -        | <b>24</b> |
| 2011               | 6         | 19        | 6         | 19        | 1         | 3        | 18                 | 58        | 0         | 0        | <b>31</b> |
| 2012               | 8         | 23        | 12        | 35        | 1         | 3        | 12                 | 31        | 2         | 6        | <b>35</b> |
| 2013               | 9         | 23        | 8         | 21        | 0         | 0        | 15                 | 39        | 6         | 15       | <b>38</b> |
| Total              | <b>28</b> | <b>22</b> | <b>33</b> | <b>26</b> | <b>2</b>  | <b>1</b> | <b>55</b>          | <b>43</b> | <b>10</b> | <b>8</b> |           |

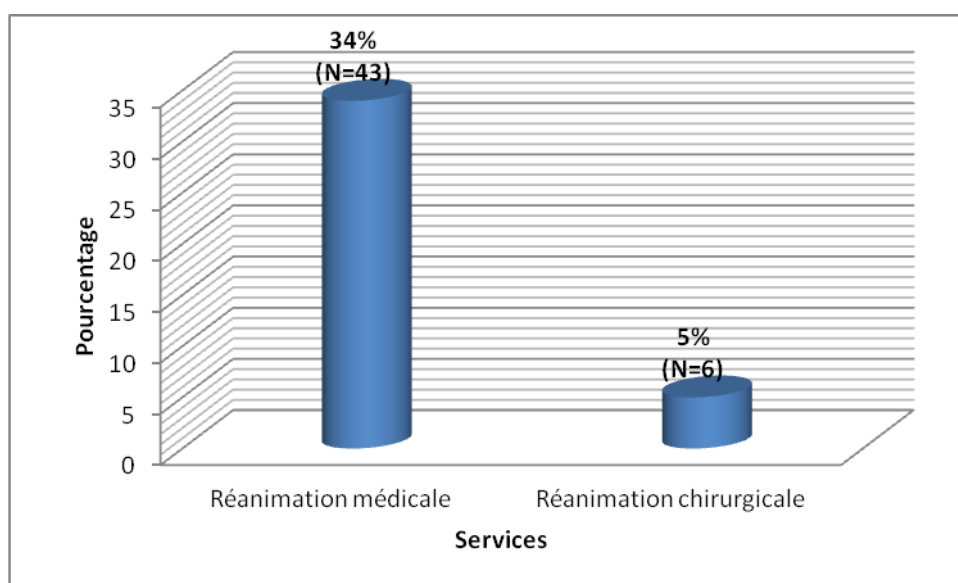
(-) : pourcentage non évalué le nombre de souches pour 2010 est < à 30.



**Figure 26. Répartition des souches collectées par spécialités cliniques de 2010 à 2013.**

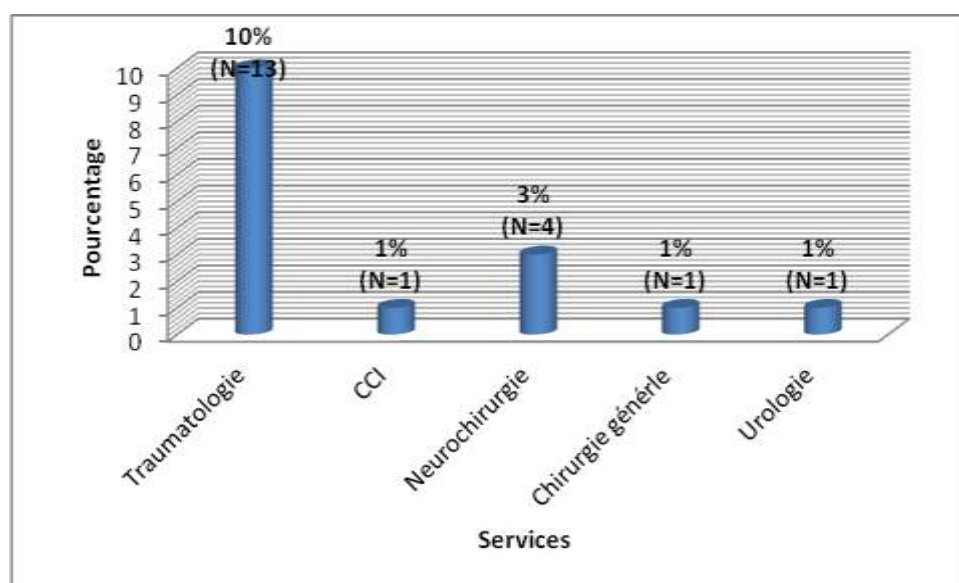
La majorité de nos souches sont isolées des soins intensifs, puis des spécialités chirurgicales, et des urgences, très peu sont isolées de la pédiatrie.

- **Soins intensifs** (Total des souches 128)



**Figure 27. Répartition des souches en soins intensifs**  
en soins intensifs, nos isolats dominent en réanimation médicale, par rapport à la réanimation chirurgicale laquelle a été créée en 2005 seulement.

- **Spécialités chirurgicales** (Total des souches 128)



**Figure 28. Répartition des souches par spécialités chirurgicales**

Nos isolats dominent en traumatologie et neurochirurgie, deux spécialités qui partagent la même salle opératoire aux urgences de chirurgie.

- **Spécialités médicales** (Total des souches 128)

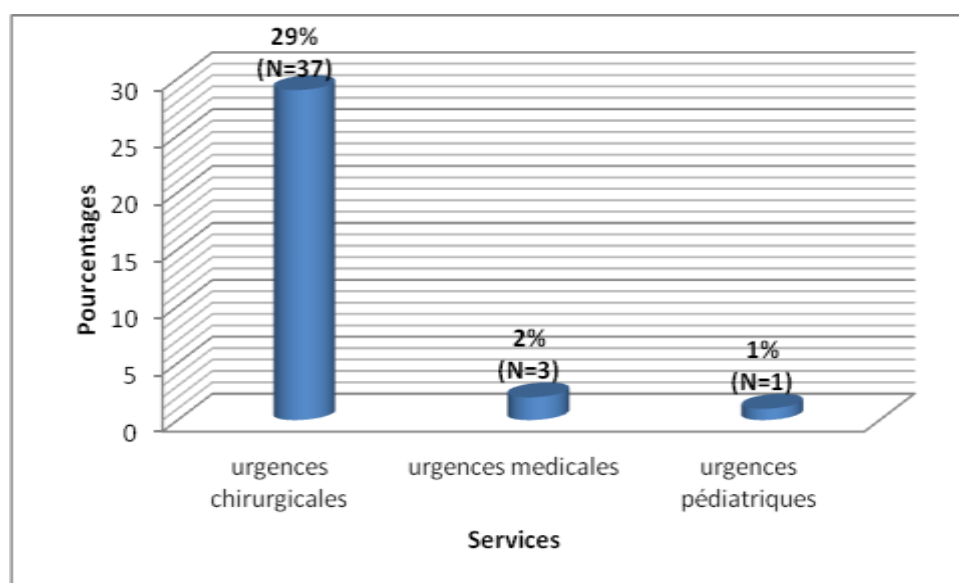
**Tableau 10. Répartition des souches par spécialités médicales**

| Nombre<br>Services | N |
|--------------------|---|
| Cardiologie        | 3 |
| Néphrologie        | 3 |
| Hématologie        | 2 |
| Médecine interne   | 2 |
| Diabétologie       | 2 |

Les services de médecine où *Acinetobacter baumannii* a été retrouvé sont la cardiologie, la néphrologie suivies de l'hématologie et la diabétologie.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

- **Urgences** (Total des souches 128)



**Figure 29. Répartition des souches aux urgences**

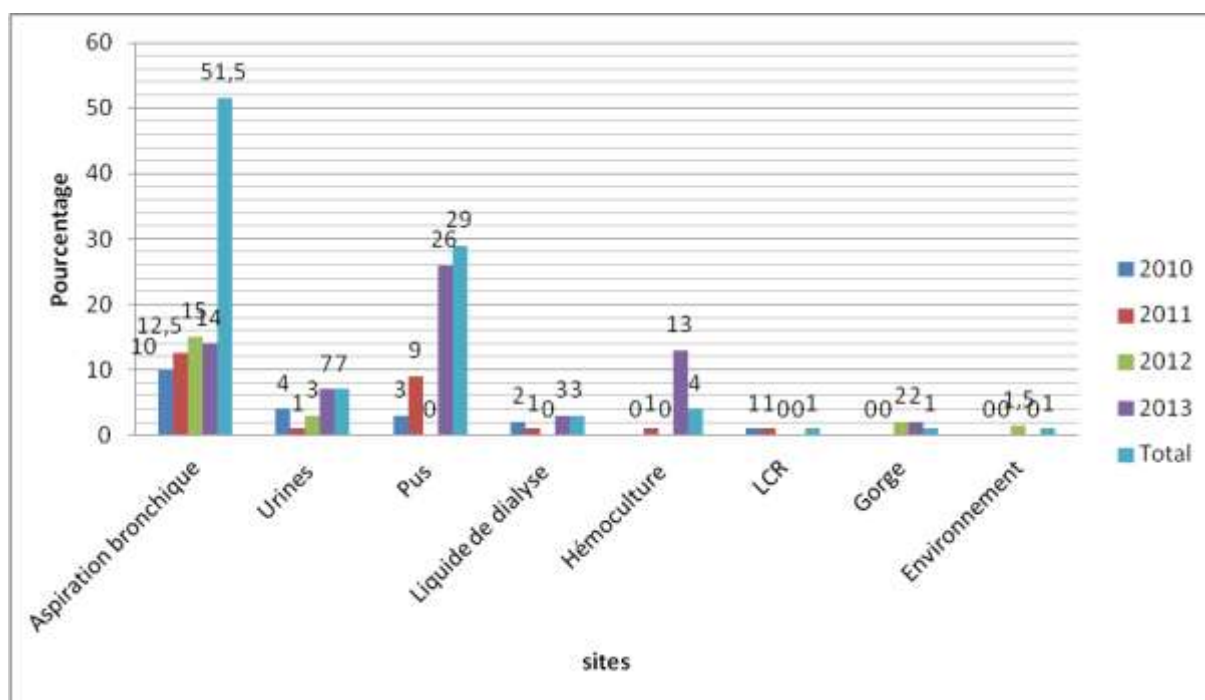
Aux urgences, la majorité de nos souches sont isolées des urgences chirurgicales.

### XI.3. Répartition des souches collectées par sites de 2010 à 2013

**Tableau 11. Nombre et pourcentage des souches par sites de 2010 à 2013.**  
(Pourcentage calculé par rapport à un total de 128 souches)

| Années<br>Type de prélèvement | 2010 |    | 2011 |      | 2012 |     | 2013 |    | TOTAL    |      |
|-------------------------------|------|----|------|------|------|-----|------|----|----------|------|
|                               | N    | %  | N    | %    | N    | %   | N    | %  | N        | %    |
| Aspiration bronchique         | 13   | 10 | 16   | 12,5 | 19   | 15  | 18   | 14 | 66       | 51,5 |
| Urines                        | 3    | 4  | 1    | 1    | 2    | 3   | 3    | 7  | 9        | 7    |
| Pus                           | 4    | 3  | 12   | 9    | 11   | 8,5 | 10   | 26 | 37       | 29   |
| Liquide de dialyse            | 3    | 2  | 1    | 1    | 0    | 0   | 1    | 3  | 5        | 3    |
| Hémoculture                   | 0    | 0  | 1    | 1    | 0    | 0   | 5    | 13 | 6        | 4    |
| LCR                           | 1    | 1  | 1    | 1    | 0    | 0   | 0    | 0  | 2        | 1    |
| Gorge                         | 0    | 0  | 0    | 0    | 1    | 2   | 1    | 2  | 1        | 1    |
| Environnement                 | 0    | 0  | 0    | 0    | 2    | 2   | 0    | 0  | 2        | 2    |
| Total                         |      |    |      |      |      |     |      |    | 128(100) |      |

## CHAPITRE XI : RESULTATS



**Figure 30. Répartition des souches collectées par site de 2010 à 2013**

L'aspiration bronchique, représente le prélèvement dominant d'où sont isolées nos souches, puis les pus, ce qui démontre que l'intubation, et l'acte opératoire sont les deux principaux facteurs de risque d'acquisition d'*Acinetobacter baumannii* au CHU.

**Tableau 12. Répartition des souches invasives isolées d'hémocultures et de LCR par services et par années.**

| Années et Nombre<br>Prélèvement et services | 2010<br>N | 2011<br>N | 2012<br>N | 2013<br>N | Total |
|---------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| <b>Hémocultures :</b>                       |           |           |           |           |       |
| Hématologie                                 | 0         | 0         | 0         | 2         | 2     |
| Urgences chirurgicales                      | 0         | 0         | 0         | 1         | 1     |
| Urgences médicales                          | 0         | 0         | 0         | 1         | 1     |
| Réanimation médicale                        | 0         | 0         | 0         | 1         | 1     |
| Pédiatrie                                   | 0         | 1         | 0         | 0         | 1     |
| <b>Total</b>                                | 0         | 1         | 0         | 5         | 6     |
| <b>LCR :</b>                                |           |           |           |           |       |
| Neurochirurgie                              | 1         | 1         | 0         | 0         | 2     |

Six souches sont isolées d'hémoculture, soit 4% (6/128) en 2013, dont deux du service d'hématologie, et deux souches de LCR soit 2% (2/128).

### XI.4.Résultats de l'étude Phénotypique : sensibilité des souches collectées aux antibiotiques selon l'antibiogramme et les tests complémentaires.

#### XI.4.1. Antibiotypie

Plusieurs phénotypes se sont révélés après antibiogrammes et tests complémentaires, confirmés par PCR, les souches collectées ont été catégorisées dans les principaux phénotypes suivants pour les  $\beta$ -lactamines en premier lieu.

Les résultats ont révélé des souches sensibles (figure 22)

Pour les aminosides et les quinolones l'antibiogramme a permis une classification phénotypique, confirmée par PCR pour certains mécanismes.

Les principaux phénotypes retrouvés pour les  $\beta$ -lactamines sont : Pénicillinase, BLSE, céphalosporinase, oxacillinase 23, oxacillinase 24, NDM1 et oxacillinase 58 (Détailés dans le tableau 29 ci-dessous).

#### Phénotype 1 : pénicillinase



**Figure 31. Antibiogramme de la souche 2120 /2012 CHU de Tizi-Ouzou(CNR)**

(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC)Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IPM) Imipénème , (GM) Gentamicine ,(TM) Tobramycine (ATM) Aztréonam, (AMC)Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN)Amikacine

Interprétation : La souche 2120/2012 présente un phénotype de pénicillinase, observé, par la restauration de l'activité de la ticarcilline, c'est-à-dire l'apparition d'un diamètre de sensibilité autour du TCC grâce à l'acide clavulanique , une sensibilité aux carbapénèmes et ciprofloxacine , une résistance à la gentamicine et tobramycine est observée.

### Phénotype 2 .BLSE



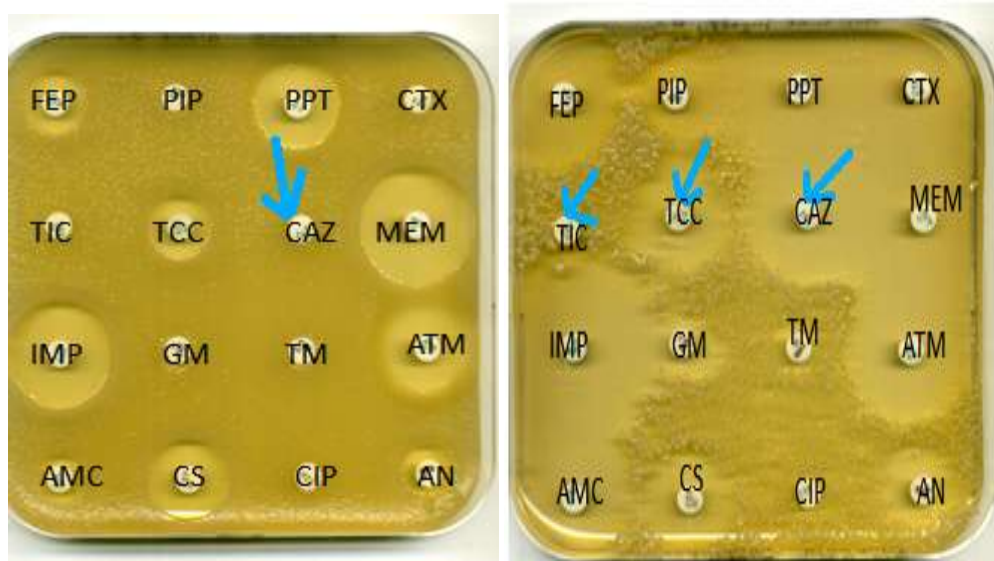
**Figure 32. Antibiogramme de la souche 4476 /01 CHU de Tizi-Ouzou(CNR)**

(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC) Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IMP) Imipénème (GM) Gentamicine ,(TM) Tobramycine (ATM) Aztréonam (AMC) Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN) Amikacine

Ce phénotype BLSE+ est mis en évidence sans test complémentaire, il est visible directement sur l'antibiogramme par la synergie observée entre le disque de ceftazidime et ticarcilline+acide clavulanique il est à noter par ailleurs une très bonne sensibilité aux carbapénèmes Imipénème et Meropénème, ainsi qu'aux quinolones (ciprofloxacine). Pour les aminosides une résistance avec diamètre contact autour de la gentamicine, tobramycine et amikacine est observée.

La plupart du temps l'observation de cette image a été obtenue sur une boîte additionnée de cloxacilline, laquelle permet de distinguer, la céphalosporinase et la BLSE ou bien après tests complémentaires.

### Phénotype 3. Céphalosporinase AmpC +pénicillinase TEM



Boite avec cloxacilline

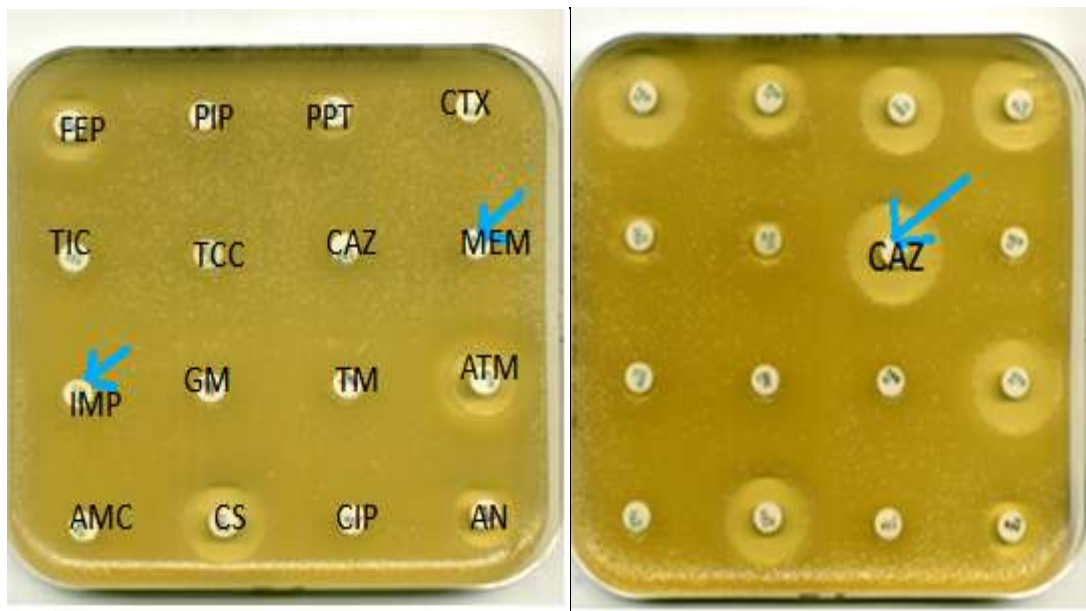
**Figure 33. AntibioGramme de la souche 855 /11 CHU de Tizi-Ouzou(CNR)**

(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC) Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IMP) Imipénème , (GM) Gentamicine , (TM) Tobramycine, (ATM)Aztréonam (AMC) Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN) Amikacine

#### Interprétation

Cet antibiogramme révèle la présence d'une céphalosporinase Amp C et d'une pénicillinase, constatées respectivement par la restauration de l'activité de la ceftazidime sur la deuxième boîte avec cloxacilline et l'activité de la ticrailline restaurée associée à l'acide clavulanique. Le type de pénicillinase sera recherché par PCR. Pour les aminosides et quinolones plusieurs profils associés ont été constatés qui ont été classé phénotypiquement et génotypiquement.

### Phénotype 4. Carbapénèmase type oxacillinase 24 associée à la céphalosporinase Amp C



Boîte avec cloxacilline

**Figure 34. Antibiogramme de la souche 1034 /13 CHU de Tizi-Ouzou (CNR)**

(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC) Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IMP) Imipénème (GM) Gentamicine ,(TM) Tobramycine (ATM)Aztréonam (AMC) Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN) Amikacine

#### Interprétation

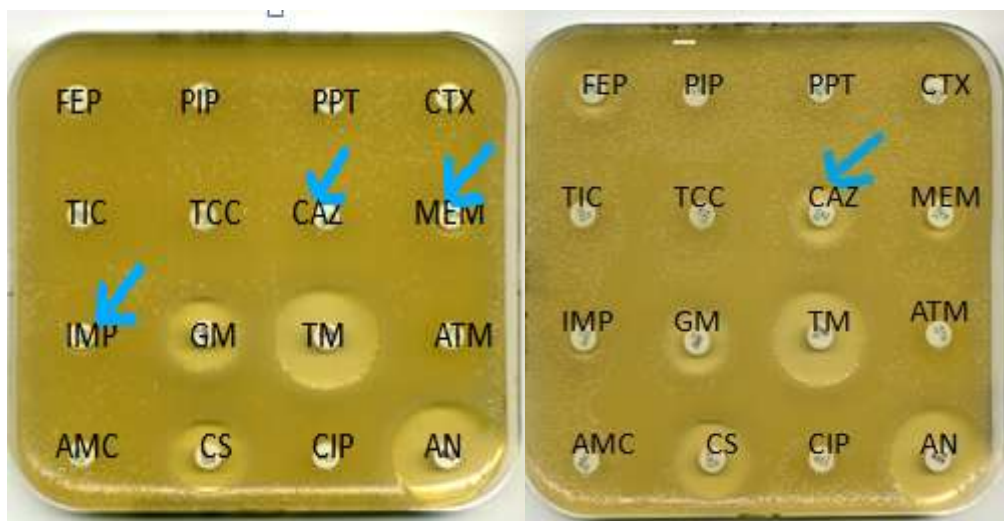
Une résistance autour des disques de carbapénèmes, incite à la recherche de carbapénèmases type metallo- $\beta$ -lactamase(MBL) phénotypiquement d'abord par le test à l'EDTA. La résistance à la ceftazidime nous fait rechercher la céphalosporinase AmpC, et une BLSE.

Dans la boîte avec cloxacilline l'activité de la ceftazidime étant rétablie, celle de la ticarcilline associée à l'acide clavulanique ne l'étant pas, indique que ce phénotype possède une céphalosporinase AmpC, mais pas de pénicillinase. Les tests de synergie et rapprochement de disques sur une boîte, Mueller Hinton additionnée de cloxacilline indiquent l'absence de BLSE.

Le test de l'Imipénème+EDTA, exclut la présence d'une carbapénèmase type Métallo-enzyme (Annexe3).

La recherche par PCR des oxacillinases est préconisée. Pour les aminosides et quinolones plusieurs profils associés ont été constaté qui ont été classé phénotypiquement et génotypiquement.

### **Phénotype 5. Carbapénèmase type oxacillinase 23, plus Céphalosporinase AmpC plus pénicillinase Tem**



**Boite avec cloxacilline**

**Figure 35. AntibioGramme de la souche 3600 /13 CHU de Tizi-ouzou(CNR)**

(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC) Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IMP) Imipénème (GM) Gentamicine ,(TM) Tobramycine (ATM) Aztréonam (AMC) Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN) Amikacine

### Interprétation

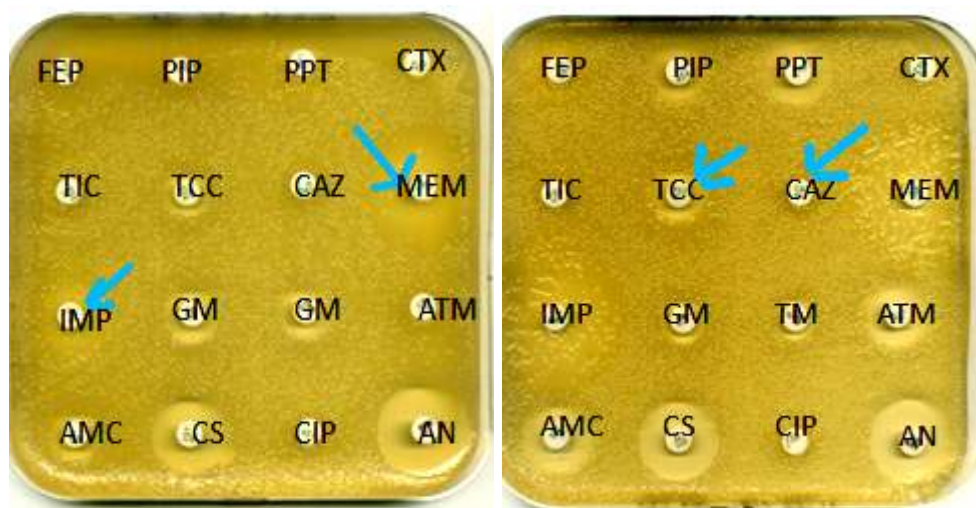
Une résistance aux carbapénèmes, (avec petites zones d'inhibition autour des disques imipénème et meropénème incite à la recherche de carbapénèmases type MBL phénotypiquement d'abord par le test à l'EDTA, la résistance à la ceftazidime nous fait rechercher la céphalosporinase AmpC, et une BLSE. Dans la boîte avec cloxacilline l'activité de la ceftazidime étant rétablie, celle de ticarcilline associée à l'acide clavulanique ne l'étant pas, indique que ce phénotype possède une cephalosporinase AmpC, et pas de pénicillinase qui est tout de même suspectée laquelle sera recherchée par PCR.

Les tests de synergie et rapprochement de disques sur une boîte, Muller Hinton additionnée de cloxacilline indiquent l'absence de BLSE, le test de l'Imipénème+EDTA, est négatif ce qui exclut la présence d'une

carbapénèmase type MBL.

Le hodge test étant positif la recherche par PCR des oxacillinases est préconisée. Pour les aminosides et quinolones plusieurs profils associés ont été constaté qui ont été classé phénotypiquement et génotypiquement.

### Phénotype 6. Carbapénèmase Type NDM



Boîte avec cloxacilline

**Figure 36. Antibiogramme de la souche 3900 /13 CHU de Tizi-ouzou(CNR)**

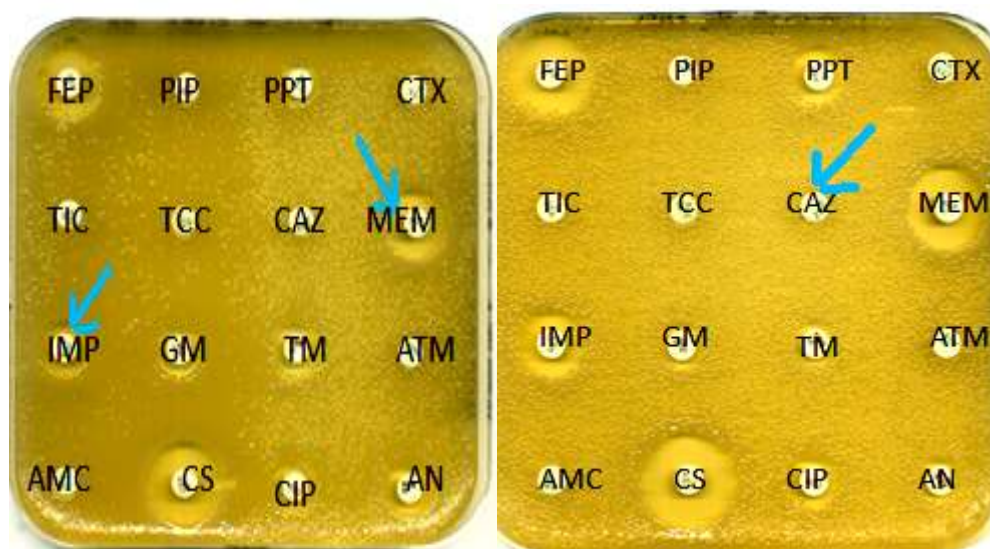
(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC) Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IMP) Imipénème (GM) Gentamicine ,(TM) Tobramycine (ATM)Aztréonam (AMC) Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN) Amikacine

### Interprétation

On constate la présence d'une double zone contact muqueuse autour des carbapénèmes (flèches), l'activité de la ticarcilline rétablie, associée à l'acide clavulanique. Il n'y a pas de restauration de l'activité de la ceftazidime, avec la boîte à la cloxacilline, donc absence de céphalosporinase pour ce phénotype.

Pour les aminosides et quinolones plusieurs profils associés ont été constatés qui ont été classés phénotypiquement et génotypiquement.

### Phénotype 7. Carbapénèmase type oxacillinase du groupe 58



Boite avec cloxacilline

**Figure 37. Antibiogramme de la souche 6234 /11 CHU de Tizi-ouzou(CNR)**

(FEP) Céfépime, (PIP) Pipéracilline , (PPT) Pipéracilline/tazobactam, (CTX) Céfotaxime, (TIC) Ticarcilline, (TCC) Ticarcilline/acide clavulanique, (CAZ) Ceftazidime (MEM) Méropénème, (IMP) Imipénème (GM) Gentamicine ,(TM) Tobramycine (ATM)Aztréonam (AMC) Amoxicilline/Acide clavulanique ,(CS) Colistine , (CIP) Ciprofloxacine, (AN) Amikacine

#### Interprétation

L'activité des carbapénèmes est diminuée, ce qui classe les souches intermédiaires, il y a absence de pénicillinase, de céphalosporinase et de BLSE, le test à L'EDTA est négatif nous préconisons donc une recherche d'oxacillinase par PCR. Pour les aminosides et quinolones plusieurs profils associés ont été constatés qui ont été classés phénotypiquement et génotypiquement.

- **le Test de HODGE** était positif pour toutes les souches ayant présenté une résistance à l'imipénème et le meropénème.

**Remarque :** le récapitulatif des principaux, phénotypes (de 1 à 7), en nombre et pourcentages par années figure dans le tableau 29 ci-dessous.

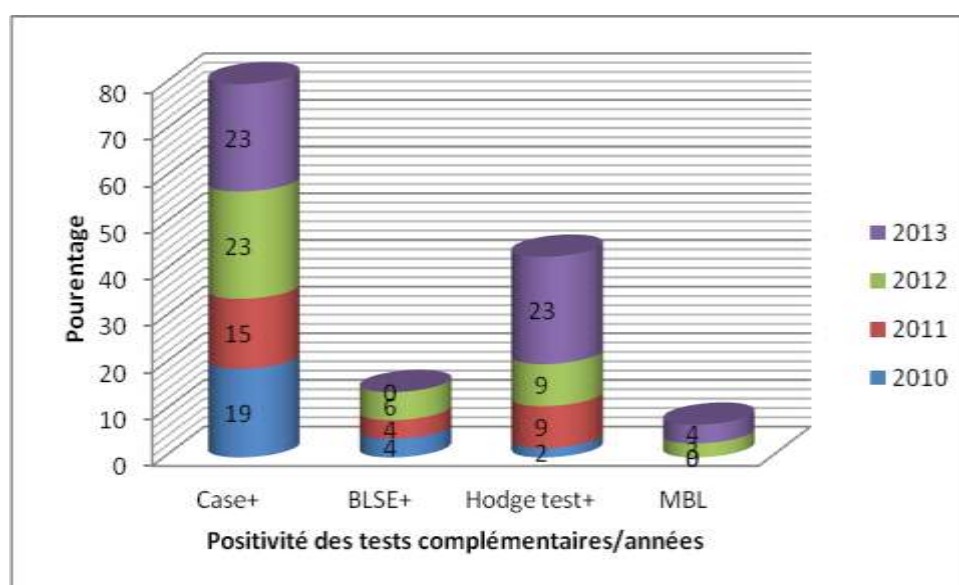
## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.4.2.Tests complémentaires

**Tableau 13. Positivité des tests complémentaires** (Total des souches 128)

| Années \ Tests complémentaires | Test cloxacilline+ : Case+ |    | BLSE+ |    | Hodge test + |    | MBL |   |
|--------------------------------|----------------------------|----|-------|----|--------------|----|-----|---|
|                                | N                          | %  | N     | %  | N            | %  | N   | % |
| 2010                           | 24                         | 19 | 5     | 4  | 3            | 2  | 0   | 0 |
| 2011                           | 19                         | 15 | 5     | 4  | 12           | 9  | 0   | 0 |
| 2012                           | 29                         | 23 | 8     | 6  | 12           | 9  | 4   | 3 |
| 2013                           | 30                         | 23 | 0     | 0  | 29           | 23 | 5   | 4 |
| <b>Total(128)</b>              | 102                        | 80 | 18    | 14 | 56           | 43 | 9   | 7 |

Case :céphalosporinase



**Figure 38. Positivité des tests complémentaires**

Le pourcentage des  $\beta$ -lactamase à spectre étendu est réduit et varie de telle sorte à diminuer pour disparaître complètement en 2013, de même les céphalosporinases diminuent, alors que les carbapénèmases, augmentent nettement. Dès 2012 les MBL apparaissent.

## XI.4.3.Résultats des CMI

- CMI à l'imipénème

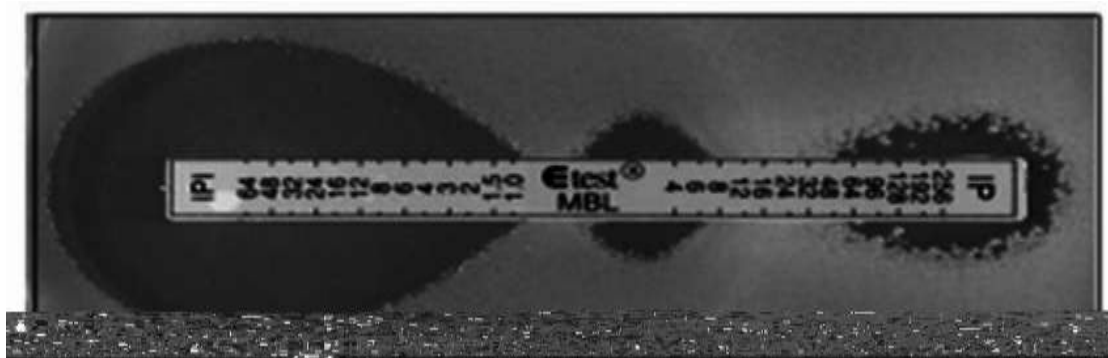
**Tableau 14. Valeurs de CMI à l'imipénème des différentes carbapénémases**

| CMI<br>Type de carbapénémase | Valeur         | CMI<br>Imp/CMI<br>Imp+EDTA |
|------------------------------|----------------|----------------------------|
| NDM (n=9)                    | 32<br>64       | >8                         |
| Oxa 23 (n=28)                | 24<br>32<br>64 | < ou = 8                   |
| Oxa 24 (n= 16)               | 24-32          | < ou = 8                   |
| Oxa 58 (n=4)                 | 32             | < ou = 8                   |

Ces CMI ont été évaluées par E-test

Le E-Test imipénème plus imipénème+EDTA a été utilisé également pour la mise en évidence des MBL, l'image de synergie (ci-dessous) a été observé pour toutes les souches NDM.

Le rapport valeur Imipénème/imipénème+EDTA (image ci-dessous) évalué pour les souches NDM1 était toujours supérieur à 8 de 32/1 ou 64/1 et inférieur ou égal à 8 et variable pour les oxacillinases allant de 2, 4,6 à 8.



**Figure 39. E-test Imipénème et Imipénème+EDTA (image sur une souche 3900/13 CHU de Tizi-Ouzou)**

On observe une synergie entre les bandelettes imipénème et imipénème+EDTA, ce qui dénote de la présence d'une Métallo-β-lactamase

## CHAPITRE XI : RESULTATS

- CMI à la colistine

**Tableau 15. Valeurs de CMI à la colistine associées aux phénotypes de résistance des  $\beta$ -lactamines.**

| <div> <div>Valeurs de CMI</div> <div>Années mécanismes</div> </div> | 0,125 | 0,19 | 0,25 | 0,38 | 0,50 | 0,75 | 0,94 | 1 | 1,5 | 2 | 3 | 6 |
|---------------------------------------------------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|---|-----|---|---|---|
| <b>2010</b>                                                         |       |      |      |      |      |      |      |   |     |   |   |   |
| Case+Tem(N=7)                                                       |       |      | 1    |      | 2    |      |      | 2 | 2   |   |   |   |
| <b>2011</b>                                                         |       |      |      |      |      |      |      |   |     |   |   |   |
| Case+Tem(N=6)                                                       |       |      |      |      |      | 4    |      |   | 2   |   |   |   |
| <b>2012</b>                                                         |       |      |      |      |      |      |      |   |     |   |   |   |
| Case+Tem(N=9)                                                       | 1     |      |      | 1    |      |      |      | 1 | 2   | 3 | 1 |   |
| Oxa 23(N=3)                                                         | 1     | 1    |      |      | 1    |      |      |   |     |   |   |   |
| NDM1(N=4)                                                           | 1     |      |      | 2    | 1    |      |      |   |     |   |   |   |
| <b>2013</b>                                                         |       |      |      |      |      |      |      |   |     |   |   |   |
| Case+Tem(N=4)                                                       |       |      | 3    |      |      |      |      |   |     | 1 |   |   |
| Oxa 23(N=5)                                                         | 1     | 1    |      | 1    | 1    |      |      |   | 1   |   |   |   |
| Oxa 24(N=8)                                                         | 1     | 1    | 1    | 3    | 1    |      |      |   | 1   |   |   |   |
| Oxa 58(N=2)                                                         | 1     |      | 1    |      |      |      |      |   |     |   |   |   |
| NDM1(N=2)                                                           |       |      | 1    |      |      |      |      |   |     |   |   | 1 |
| Sensible(N=1)                                                       |       |      |      |      |      |      |      |   | 1   |   |   |   |
| Total (48)                                                          | 6     | 3    | 7    | 7    | 6    | 2    | 0    | 3 | 8   | 4 | 1 | 1 |

Case :céphalosporinase.

La CMI, pour la colistine a été réalisé sur 48 souches soit 38% des souches (48/128)

Une souche de phénotype NDM1 de l'année 2013 a présenté une résistance à la colistine avec une valeur de 6, le seuil (CLSI) étant à 4, cette souche est isolé du service de traumatologie. Une autre souche est intermédiaire en

## CHAPITRE XI : RESULTATS

2012 avec une valeur de 3, associée au phénotype céphalosporinase+Pénicillinase TEM, cette souche est isolée du service d'urologie.

La majorité de ces souches ont des CMI qui se situent à des valeurs basses, soit 96% (46/48) donc sont sensibles.

- **CMI à la Nétilmicine**

Trente six souches sur les 128, sont résistantes à la nétilmicine, avec des CMI supérieures à 16 dont 21 ont présenté un très haut niveau de résistance, avec une CMI de 256. (Qui est la valeur maximale)

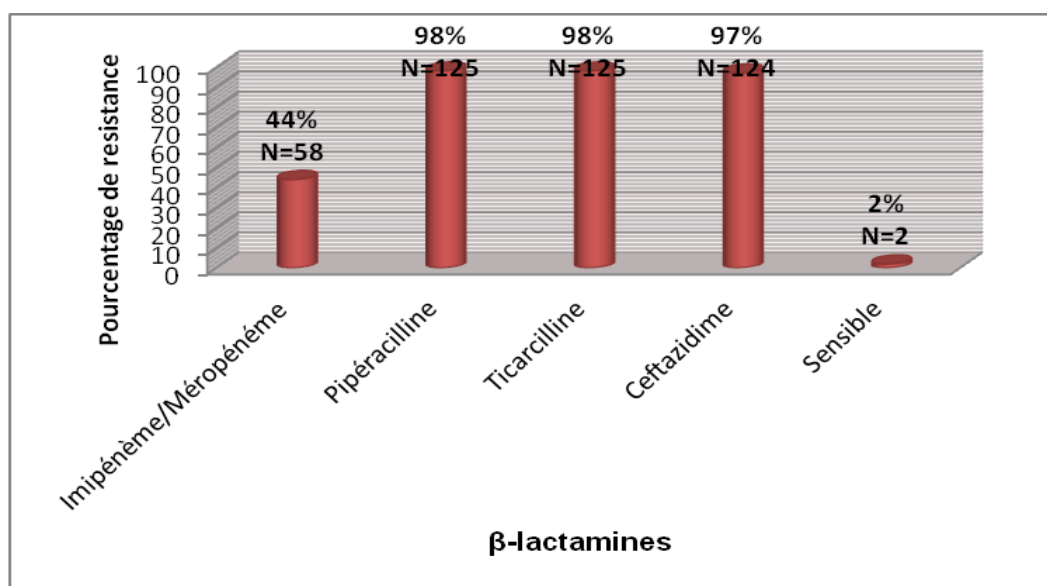
**Tableau 16. Répartition des souches dont la CMI est de 256 à la Netilmicine par années.**

| Nombre<br>Années | Souches<br>Résistantes à GTAN |   |
|------------------|-------------------------------|---|
|                  | N                             | % |
| 2010             | 4                             | 3 |
| 2011             | 8                             | 6 |
| 2012             | 5                             | 4 |
| 2013             | 4                             | 8 |
| <b>Total 128</b> | 21/128 (16%)                  |   |

**G : gentamicine ;T :Tobramicyne ;A :Amikacine ;N :Nétilmicine**

Toutes les souches ayant eu pour phénotype une résistance avec diamètre contact à tous les aminosides (GTAN) ont présenté une CMI à la Nétilmicine de 256.

### XI.4.4. Résultat de résistance et de sensibilité aux principales $\beta$ -lactamines (Total des souches 128)



**Figure 40. Résistance aux  $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013.**

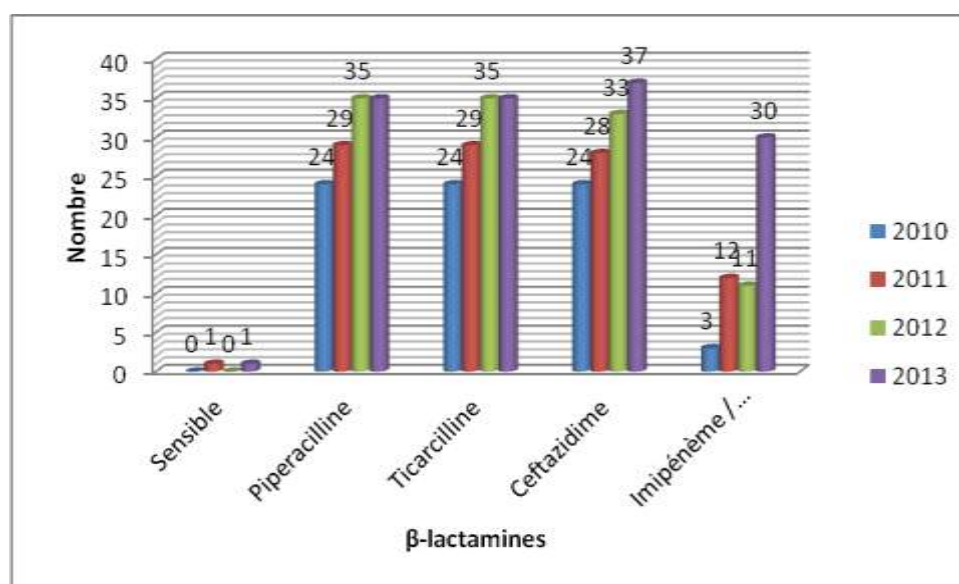
La résistance aux  $\beta$ -lactamines est supérieure à 90%, sauf pour les carbapénèmes.

#### XI.4.4.1. Evolution de la résistance aux $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013.

**Tableau 17. Evolution de la résistance aux  $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013.**

| Années<br>Molécules       | 2010(N=24) |   | 2011(N=31) |    | 2012(N=35) |     | 2013(N=38) |    |
|---------------------------|------------|---|------------|----|------------|-----|------------|----|
|                           | N          | % | N          | %  | N          | %   | N          | %  |
| Sensible                  | 0          | - | 1          | 3  | 0          | 0   | 1          | 3  |
| Piperacilline             | 24         | - | 29         | 93 | 35         | 100 | 35         | 93 |
| Ticarclilline             | 24         | - | 29         | 93 | 35         | 100 | 35         | 93 |
| Ceftazidime               | 24         | - | 28         | 96 | 33         | 100 | 37         | 99 |
| Imipénème /<br>Méropénème | 3          | - | 12         | 38 | 11         | 31  | 30         | 80 |

(-) : Pourcentage non évalué, car le nombre de souches en 2010 est inférieur à 30.



**Figure 41. Evolution de la résistance aux  $\beta$ -lactamines de 2010 à 2013**

On observe que les taux de résistance aux molécules sont maintenues élevés, au fil des quatre années, alors que la résistance aux carbapénèmes est progressive de 2010 à 2013.

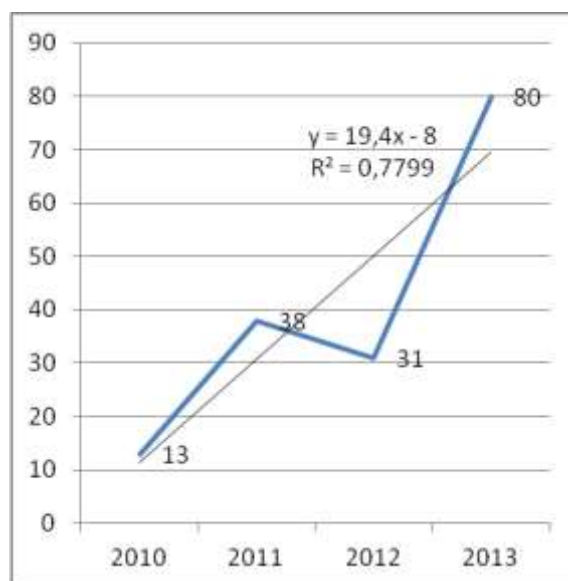
**XI.4.4.2. Test statistique :** un test de tendance du KHI2 concernant l'évolution des résistances aux  $\beta$ -lactamines a été effectué en se basant sur les résultats du tableau 17.

**Tableau 18.  $\beta$ -lactamines pour lesquelles l'évolution de la résistance n'est pas significative**

| Tendance du khi 2 |  | P    |
|-------------------|--|------|
| Molécules         |  |      |
| Piperacilline     |  | 0,27 |
| Ticarcilline      |  | 0,27 |
| Ceftazidime       |  | 0,97 |

P :valeur de tendance du Khi 2

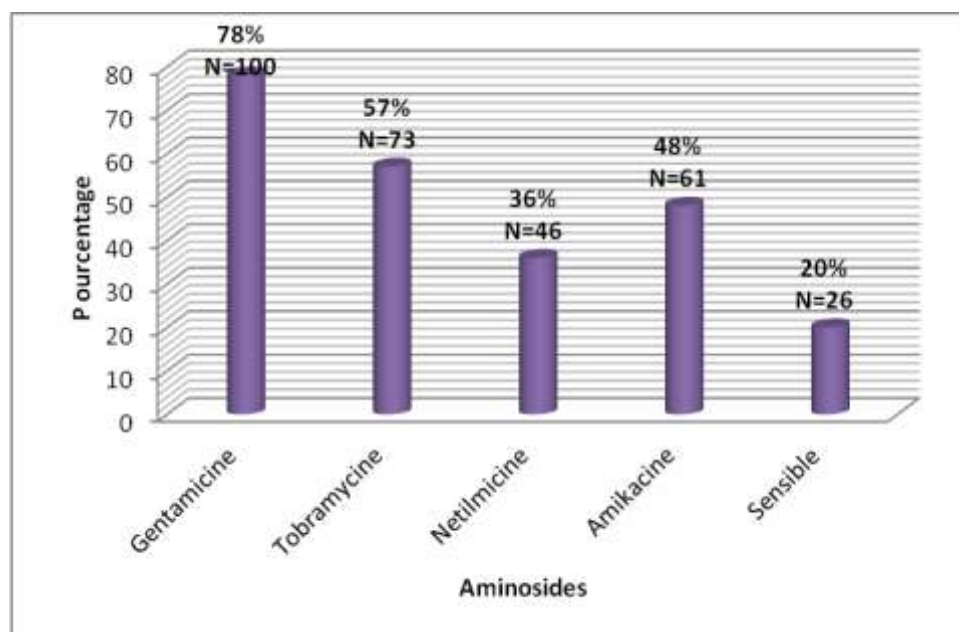
Les taux de résistances sont élevés, constants dans le temps (voir tableau 17)  
 Les valeurs de tendance du KHI 2 sont supérieures à 0,05.  
 Seul l'imipénème/meropenème ont un P inférieur à 0,05, dont l'évolution de la résistance est significative.



**Figure 42. Courbe de tendance de l'évolution de la résistance à l'imipénème/méropénème**

La résistance est en nette augmentation au fil des 4 années, cette augmentation est significative, confirmée par la courbe de tendance ci-dessus.

### **XI.4.5. Résultat des résistances aux aminosides (Total des souches 128)**



**Figure 43. Résistance aux aminosides de 2010 à 2013.**

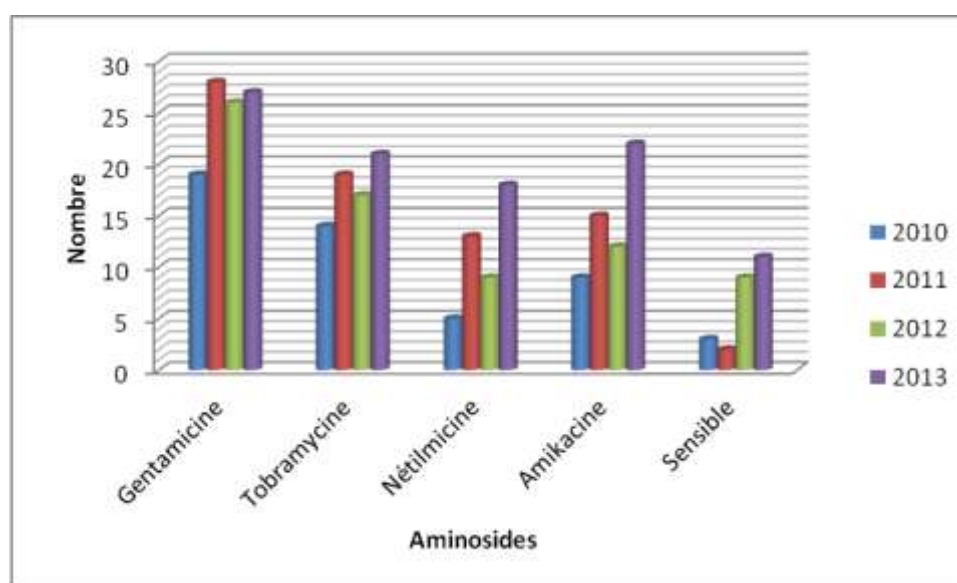
La gentamicine est la molécule pour laquelle, la résistance est la plus importante, suivie de la tobramycine, l'amikacine a une activité acceptable, moins de 50% des souches sont résistantes.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.4.5.1.Evolution de la résistance aux aminosides de 2010 à 2013.

**Tableau 19. Evolution de la résistance aux aminosides de 2010 à 2013.**

| Années<br>Molécules | 2010<br>(N=24) |   | 2011<br>(N=31) |    | 2012<br>(N=35) |    | 2013<br>(N=38) |    |
|---------------------|----------------|---|----------------|----|----------------|----|----------------|----|
|                     | N              | % | N              | %  | N              | %  | N              | %  |
| Gentamicine         | 19             | - | 28             | 90 | 26             | 74 | 27             | 70 |
| Tobramycine         | 14             | - | 19             | 60 | 17             | 48 | 21             | 56 |
| Netilmicine         | 5              | - | 13             | 42 | 2              | 5  | 18             | 48 |
| Amikacine           | 9              | - | 15             | 48 | 12             | 34 | 22             | 57 |
| Sensible            | 3              | - | 2              | 10 | 9              | 25 | 11             | 29 |



**Figure 44.Evolution des résistances aux aminosides de 2010 à 2013.**

La résistance persiste pour la gentamicine, pour quasiment toutes les souches, pendant les quatre années. La sensibilité aux aminosides tend à être restaurée au fil des années.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**XI.4.5.2. Test statistique :** un test de tendance du KHI2 concernant l'évolution des résistances aux aminosides a été effectué, en se basant sur les résultats du tableau 19.

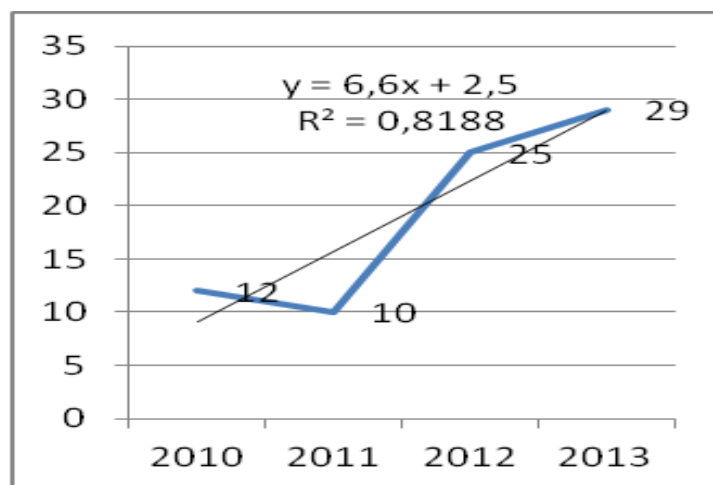
**Tableau 20. Valeurs de tendance du KHI 2 des molécules aminosides, et de leur sensibilité**

| <div>Valeur P</div> | P    |
|---------------------|------|
| Molécules           |      |
| Gentamicine         | 0,17 |
| Tobramycine         | 0,59 |
| Amikacine           | 0,21 |
| Netilmicine         | 0,11 |
| Sensible            | 0,03 |

P: valeur de tendance du KHI 2

L'évolution de la résistance de ces molécules n'est pas significative, elle est constante et stable au fil des quatre années.

Seul le phénotype sensible a un P inférieur à 0,05 et donc une évolution significative.



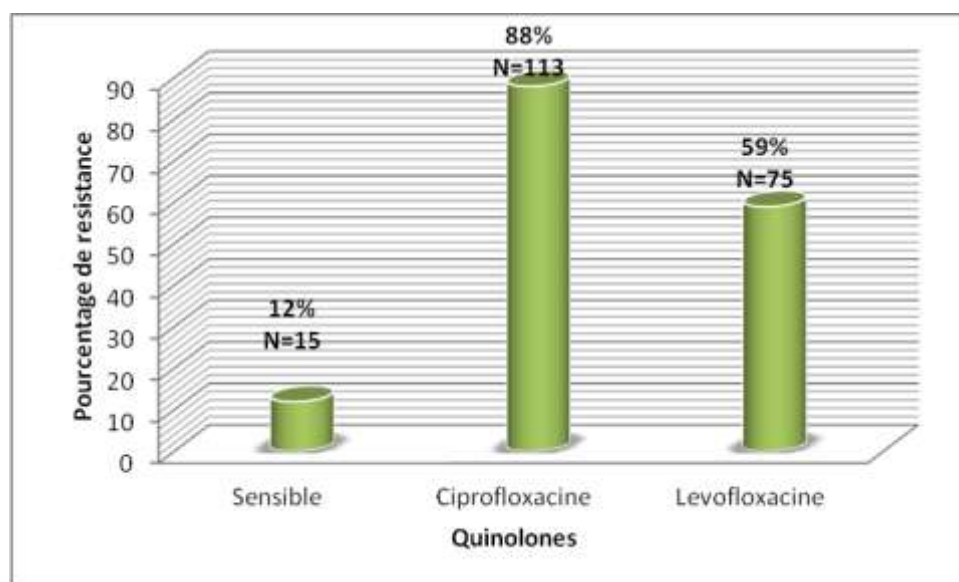
**Figure 45. Courbe de tendance du phénotype sensible aux aminosides**

Les souches collectées sont de plus en plus sensibles aux aminosides dans le temps. ( de 2010 à 2013).

## XI.4.6. Résultat de résistance aux quinolones

**Tableau 21. Résistance aux quinolones** (Total de souches 128)

| Phénotype \ Pourcentage et nombre | N   | %  |
|-----------------------------------|-----|----|
| sensible                          | 15  | 12 |
| Ciprofloxacin                     | 113 | 88 |
| Levofloxacin                      | 75  | 59 |



**Figure 46. Résistance aux quinolones de 2010 à 2013**

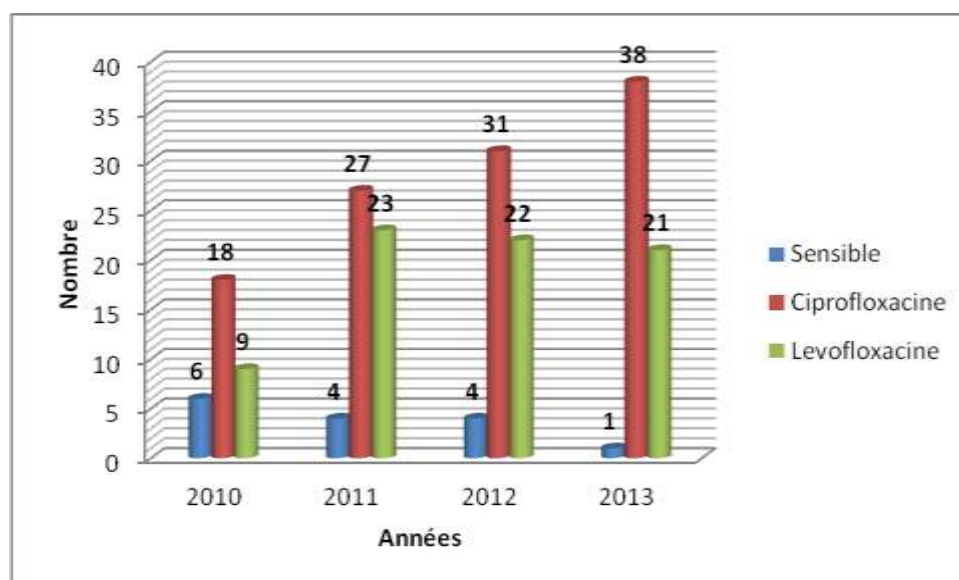
La résistance à la ciprofloxacin est très élevée. Très peu de souches sont sensibles.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.4.6.1.Evolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013

**Tableau 22.Evolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013**

| Années<br>Résistance<br>aux<br>molécules | 2010<br>(N=24) |   | 2011<br>(N=31) |    | 2012<br>(N=35) |    | 2013<br>(N=38) |     |
|------------------------------------------|----------------|---|----------------|----|----------------|----|----------------|-----|
|                                          | N              | % | N              | %  | N              | %  | N              | %   |
| Sensible                                 | 6              | - | 4              | 13 | 4              | 3  | 1              | 1   |
| Ciprofloxacine                           | 18             | - | 27             | 87 | 31             | 88 | 38             | 100 |
| Levofloxacine                            | 9              | - | 23             | 74 | 22             | 63 | 21             | 55  |



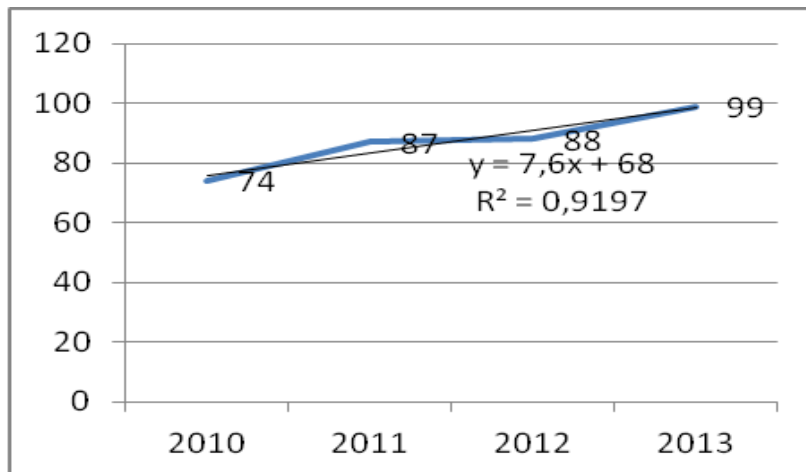
**Figure 47. Evolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013.**

La résistance à la ciprofloxacine et levofloxacine est progressive et est maximale en 2013, alors que les souches sensibles disparaissent progressivement.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**XI.4.6.2. Test statistique** : un test de tendance du KHI2 concernant l'évolution des résistances aux quinolones de 2010 à 2013 a été effectué en se basant sur les données du tableau 22..

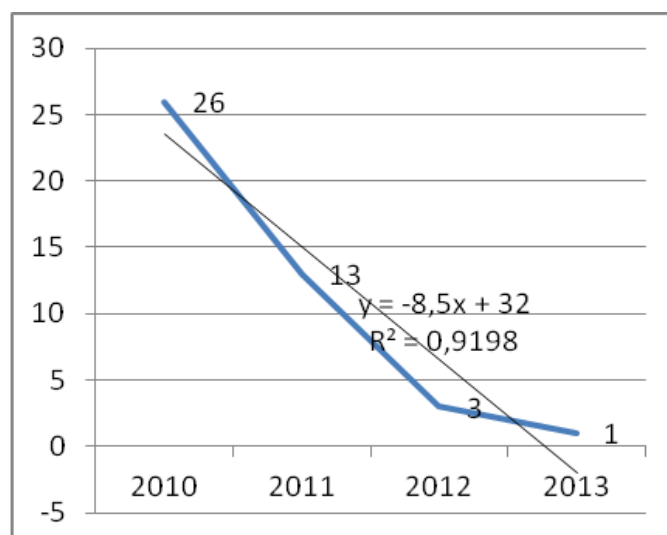
l'évolution de la résistance à la ciprofloxacine indique qu'elle est significative elle a une valeur P inférieure à 0,05.



**Figure 48. Courbe de tendance de l'évolution de la résistance à la ciprofloxacine**

la résistance à la ciprofloxacine est en augmentation significative.

L'évolution du phénotype sensible aux quinolones est significatif ; P est inférieur à 0,05 .



**Figure 49. Courbe de tendance du phénotype sensible aux quinolones**

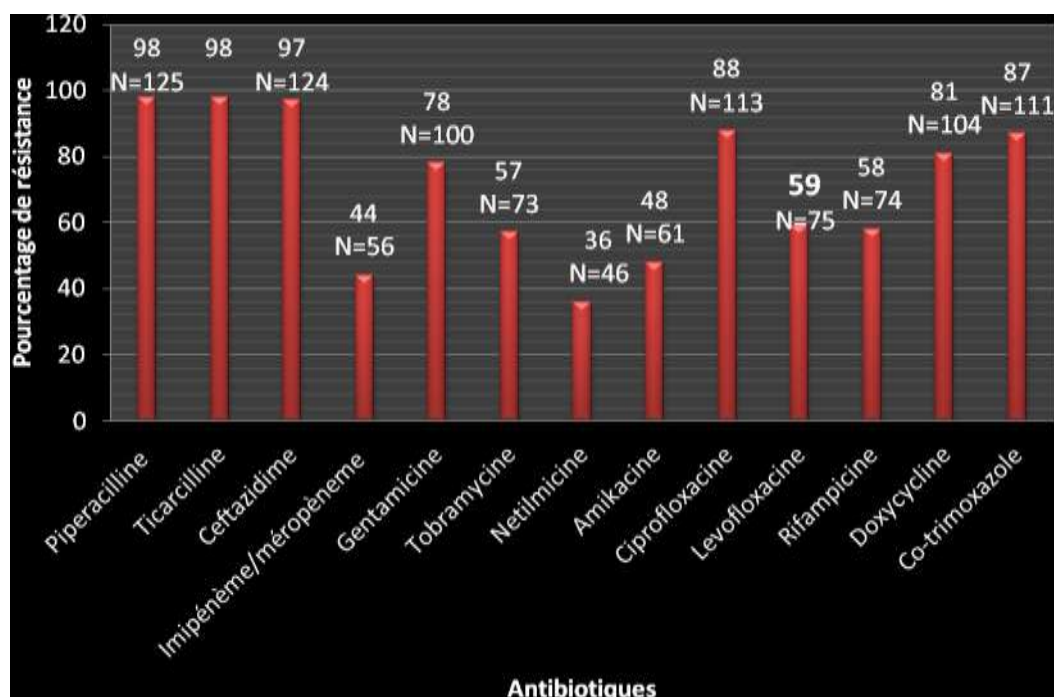
## CHAPITRE XI : RESULTATS

La sensibilité aux quinolones diminue au fil des 4 années il y a une diminution singificative confirmée par la courbe de tendance en régression.

### .XI.4.6. Sensibilité aux autres molécules antibiotiques (Total des souches 128)

**Tableau 22bis.Sensibilité aux autres molécules antibiotiques**

| <div> <div>Pourcentage et<br/>Nombre de<br/>résistance</div> <div>Molécules</div> </div> | N   | %  |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----|
| Rifampicine                                                                              | 74  | 58 |
| Doxycycline                                                                              | 104 | 81 |
| Co-trimoxazole                                                                           | 111 | 87 |



**Figure 50.Résistance globale aux antibiotiques des souches collectées**

La résistance à l'ensemble des molécules antibiotiques disponibles en milieu hospitalier montre qu'en 2013, seuls les carbapénèmes ont une bonne activité avec un taux de résistance inférieur à 50%.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.5. Résultats de l'étude génotypique : Caractérisation des gènes de résistance par amplification génique ou Polymérase Chain Réaction (PCR)

Après l'étude phénotypique (antibiogramme et tests complémentaires) les 128 souches ont été catégorisées dans les sept principaux phénotypes,

**Tableau 23. PCR préconisées pour les  $\beta$ -lactamines en fonction des phénotypes**

| Phénotype                              | 1                                                      | 2                                                                                                                                                                           | 3                                                                                                                        | 4                                                                                                                        | 5                                                                                                                        | 6                                                                                                                                              | 7                                                                                                                        |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\beta$ -lactamase recherchée          |                                                        |                                                                                                                                                                             |                                                                                                                          |                                                                                                                          |                                                                                                                          |                                                                                                                                                |                                                                                                                          |
| <b>Carbapénèmase Type Oxacillinase</b> | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub>                            | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub>                                                                                                                                                 | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa23</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa24</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa58</sub> | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa23</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa24</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa58</sub> | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa23</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa24</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa58</sub> | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub>                                                                                                                    | <i>bla</i> <sub>oxa51</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa23</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa24</sub><br><i>bla</i> <sub>oxa58</sub> |
| <b>Carbapénèmase MBL</b>               |                                                        |                                                                                                                                                                             |                                                                                                                          |                                                                                                                          |                                                                                                                          | <i>bla</i> <sub>NDM</sub><br><i>bla</i> <sub>VIM</sub> ,<br><i>bla</i> <sub>IMP</sub>                                                          |                                                                                                                          |
| <b>Pénicillinase et BLSE</b>           | <i>bla</i> <sub>TEM</sub><br><i>bla</i> <sub>PSE</sub> | <i>bla</i> <sub>TEM</sub><br><i>bla</i> <sub>SHV</sub><br><i>bla</i> <sub>CTXM</sub><br><i>bla</i> <sub>PER</sub><br><i>bla</i> <sub>GES</sub><br><i>bla</i> <sub>VEB</sub> | <i>bla</i> <sub>TEM</sub><br><i>bla</i> <sub>SHV</sub><br><i>bla</i> <sub>PSE</sub>                                      |                                                                                                                          | <i>bla</i> <sub>TEM</sub><br><i>bla</i> <sub>PER</sub><br><i>bla</i> <sub>GES</sub>                                      | <i>bla</i> <sub>TEM</sub><br><i>bla</i> <sub>SHV</sub><br><i>bla</i> <sub>CTXM</sub><br><i>bla</i> <sub>PER</sub><br><i>bla</i> <sub>GES</sub> |                                                                                                                          |

**Tableau 24. PCR préconisées pour les aminosides selon les phénotypes**

| Phénotype de Résistance / Enzyme recherchée | G        | TNA        | GT         | NeoAI      | GTAN            |
|---------------------------------------------|----------|------------|------------|------------|-----------------|
| Acéthylase                                  | AAC(3)-I | AAC(6')-Ia |            |            |                 |
| Adénylase                                   |          |            | ANT(2'')-I |            |                 |
| Phosphorylase                               |          |            |            | APH(3')-VI |                 |
| Méthylase                                   |          |            |            |            | ArmA<br>ou rmtA |

Gentamicine (G) ; Nétilmicine (N) ; Amikacine (A) ; Tobramycine (T) ; Néomycine (Neo)  
Isepamicine (I)

## CHAPITRE XI : RESULTATS

- **PCR effectuées pour les quinolones** : les gènes recherchés pour les quinolones pour les souches ayant présenté une résistance à la ciprofloxacine, ou ciprofloxacine et lévofloxacine sont :
- QnrA, QnrB.
- la mutation du gène gyr A et sa surexpression ParC.

### XI.5.1. Résultats des PCR en images

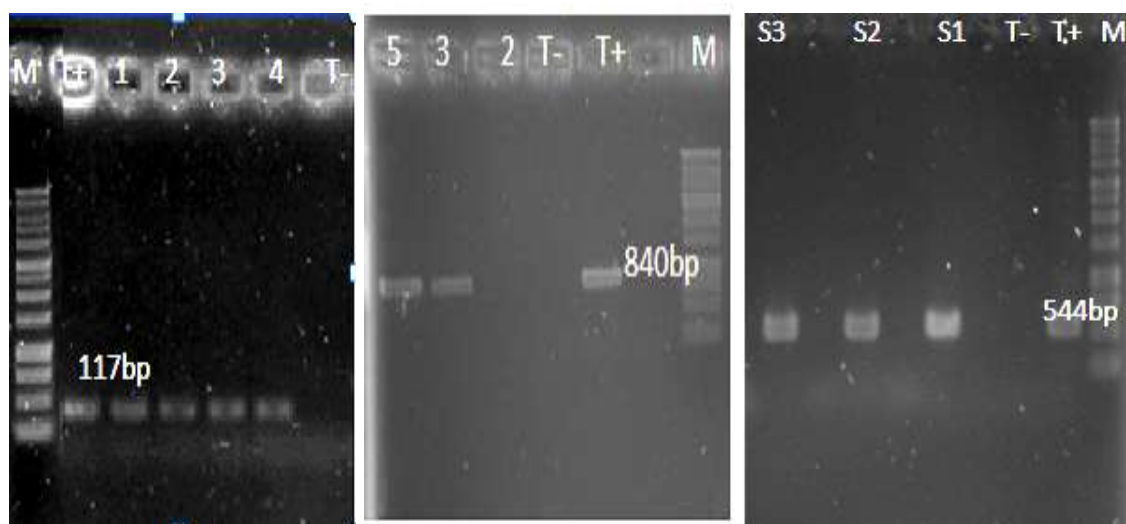
Quelques exemples sont choisis pour les :

- **$\beta$ -lactamines**

PCR: *bla*<sub>oxa51</sub>

Pénicillinase : *bla*<sub>TEM</sub>

BLSE : *bla*<sub>CTX</sub> (A, B), *bla*<sub>CTXM'</sub>



**Figure 51.** Images de PCR Positives pour les gènes, *bla*<sub>oxa51</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTXM'</sub>

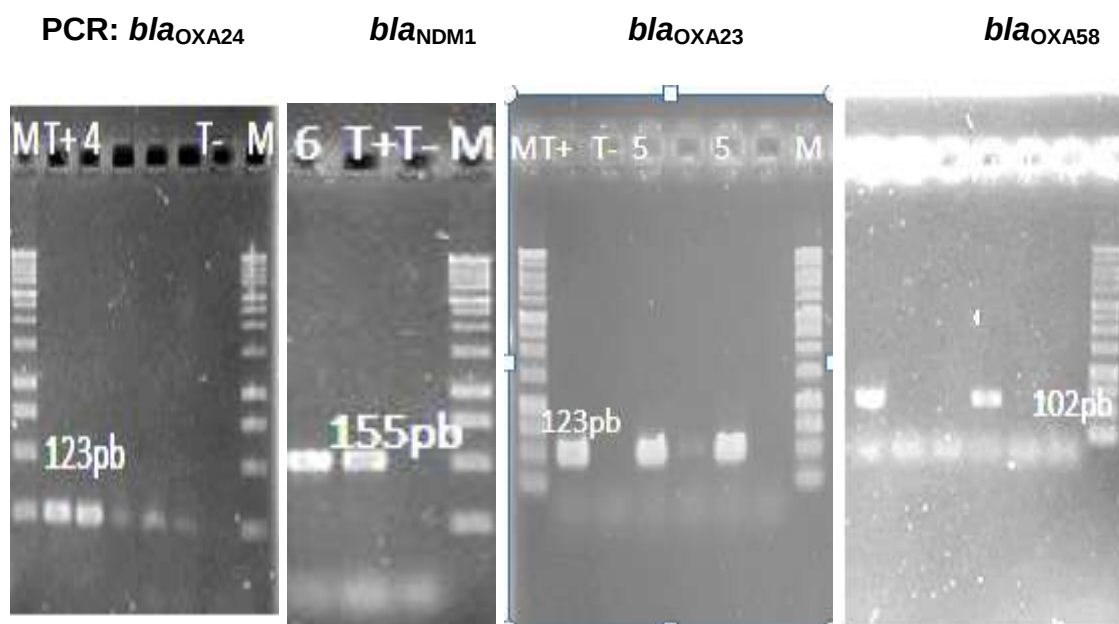
Le marqueur de poids moléculaire M est de 100 paires de bases. (T+ : témoin ; positif, T- : témoin négatif)

Toutes les souches des différents phénotypes hébergent le gène de l'oxacilline intrinsèque 51. (1 : 295/2010 ; 2 : 3971/2012, 3 : 855/2011 ; 4 : 1034/2013)

Il y a présence de la pénicillinase TEM, chez les phénotypes, 5 et 3 et absence chez le phénotype 2. (5 : 3308/2010 ; 3 : 295/2010)

La recherche des pénicillinases, ou BLSE type PER, GES, VEB, SHV s'est avérée négative.

La recherche des gènes sur les souches S1 (4235/2010), S2 (1068/2011) et S3 (3376/2012) (voir figure 51) de BLSE type CTXM (A,B), CTXM' est positive : les BLSE de notre étude sont donc de type CTX-M.

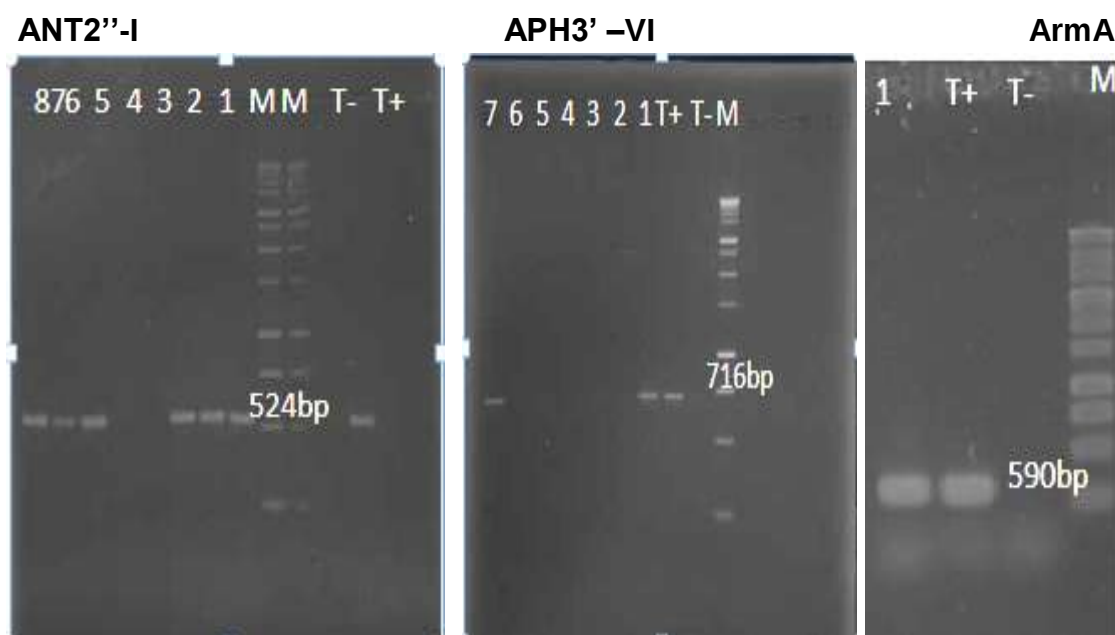


**Figure 52.** Images de PCR positives pour les gènes : *bla*<sub>Oxa24</sub>, *bla*<sub>NDM1</sub>, *bla*<sub>Oxa23</sub>, *bla*<sub>Oxa58</sub>

Le marqueur de Poids moléculaire M est de 100 paires de bases, (T+ : témoin ; positif ; T- : témoin négatif)

Les souches sont 4 (333/2012), 5(3165/2013) ,6(1690/2012) et 7(6234/2011) correspondent aux souches des phénotypes respectifs cités plus haut.

- les Aminositides



**Figure 53. Images de PCR Positives pour les gènes ANT2''-I, APH3' -VI, ArmA**

Le marqueur de Poids moléculaire M est de 100 paires de bases, (T+ : témoin ; positif  
T- : témoin négatif)

**ANT2''I** (nucléotidyl transfèrase) :

1(295/2010) ;2(443/2010) ;3(206/2011) ;4(3248/2011) ;5(574/2012) ;6(3971/2012) ; 7(3900/2013) ; 8(3165/2013).

**APH3' VI** (phosphorylase) :

1(443/2010) ;2(446/2010) ;3(503/2010) ;4(1280/2011) ;5(206/2011) ;6(1039/2012) ; 7(1034/2013)

**ArmA** (méthylase) : 1(5253/2001)

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.5.2.Type de $\beta$ -lactamases retrouvées et correspondances génotype, phénotype.

**Tableau 25.  $\beta$ -lactamases retrouvées après PCR et test complémentaires.**

| $\beta$ -lactamases | Type de mécanisme                   |
|---------------------|-------------------------------------|
| Pénicillinase       | TEM                                 |
| Céphalosporinase    | AmpC                                |
| BLSE                | CTX M                               |
| Carbapénèmases      | Oxacillinases : 51,23, 24,58 et NDM |

La séquence d'insertion *IsbA<sub>1</sub>* a été retrouvée par PCR associée à la céphalosporinase AmpC et oxacillinases 23, 24 et 51.

**Tableau 26. Correspondance phénotypes et génotypes pour les  $\beta$ -lactamines.**

| $\beta$ -lactamase<br>phénotype    | Oxa<br>51 | Oxa<br>23 | Oxa<br>24 | Oxa<br>58 | NDM | Séquence<br>d'insertion<br><i>IsbA<sub>1</sub></i> | Pénicillinase<br>TEM | Case<br>AmpC | $\beta$ BLSE<br>CTX-M |
|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----|----------------------------------------------------|----------------------|--------------|-----------------------|
| Phénotype 1<br>Pénicillinase       | +         | -         | -         | -         | -   | +                                                  | +                    | -            | -                     |
| Phénotype 2<br>BLSE                | +         | -         | -         | -         | -   | +                                                  | -                    | -            | +                     |
| Phénotype 3<br>Case+Tem            | +         | -         | -         | -         | -   | +                                                  | +                    | +            | +/-                   |
| Phénotype 4<br>Oxa24+Case          | +         | -         | +         | -         | -   | +                                                  | +                    | +            | -                     |
| Phénotype 5<br>Oxa 23<br>+Case+TEM | +         | +         | -         | -         | -   | +                                                  | +                    | +            | +/-                   |
| Phénotype 6<br>NDM                 | +         | -         | -         | -         | +   | -                                                  | -                    | -            | +/-                   |
| Phénotype 7<br>Oxa 58              | +         | -         | -         | +         | -   | -                                                  | -                    | -            | -                     |

+ : Présence ; - : Absence ; +/- : présent ou absent (associé ou non) (voir tableau 29)

### Conclusion

## CHAPITRE XI : RESULTATS

La pénicillinase mise en évidence est de nature TEM, les BLSE retrouvées sont des CTX-M, les carbapénèmases à savoir l'oxacillinase 51 naturelle est confirmée pour toutes les souches. Selon les phénotypes on distinguera les oxacillinases 23, 24, 58 et NDM1. La séquence d'insertion est associée à l'oxacillinase 51, 23 et 24, sauf pour les phénotypes 6 et 7.

Les résultats des PCR, ont été complétés par un séquençage des gènes des pénicillinases TEM, BLSE CTX M et de la carbapénémase NDM.

Pour les aminosides les gènes cités ci dessus ont été retrouvés, la méthylase ArmA a été mise en évidence et correspond aux souches ayant présenté une CMI à la nétimicine de 256.

Les gènes Qnr A et QnrB n'ont pas été mis en évidence, seule la mutation *gyrA* et sa surexpression *ParC* ont été retrouvées.

### XI.5.3. Résultats du Séquençage

le séquençage a été préconisé pour les phénotypes NDM, les souches BLSE+ type CTX-M, et pour la pénicillinase TEM.

**Tableau 27. Résultats du séquençage**

| Gène séquencé \ Résultat du séquençage      | séquençage                     |
|---------------------------------------------|--------------------------------|
| Pénicillinase : <i>bla</i> <sub>TEM</sub>   | <i>bla</i> <sub>TEM-128</sub>  |
| BLSE : <i>bla</i> <sub>CTX M</sub>          | <i>bla</i> <sub>CTX M-15</sub> |
| Carbapénémase MBL <i>bla</i> <sub>NDM</sub> | <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>    |

Le phénotype NDM est typé NDM1.

Le phénotype BLSE CTXM a donné au séquençage CTXM15 (voir les séquences en Annexe 8), la pénicillinase TEM est typée TEM 128.

## XI.6. Analyse des mécanismes de résistance par familles d'antibiotiques

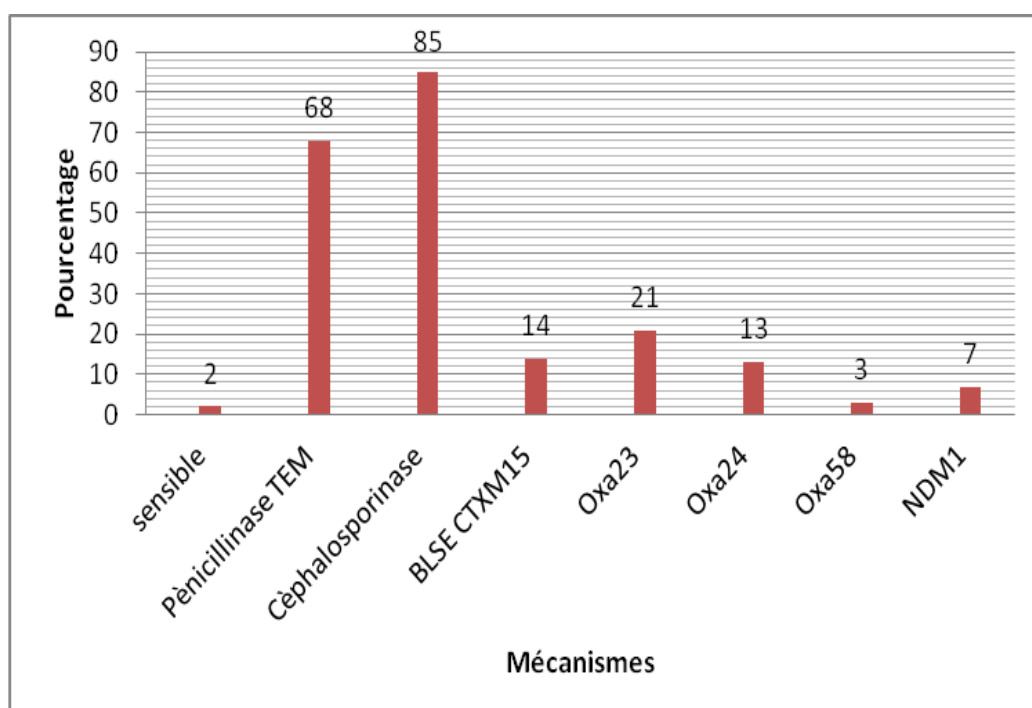
### XI.6.1. $\beta$ -lactamines

#### XI.6.1.1. Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines (non associés)

(Total des souches 128)

**Tableau 28. Mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines (non associés) des 128 souches.**

| Mécanisme               | Nombre et pourcentage |    |
|-------------------------|-----------------------|----|
|                         | N                     | %  |
| sensible                | 2                     | 2  |
| Pénicilline TEM         | 87                    | 68 |
| Céphalosporinase        | 108                   | 85 |
| BLSE CTX <sub>M15</sub> | 18                    | 14 |
| Oxacilline 23           | 28                    | 21 |
| Oxacilline 24           | 16                    | 13 |
| Oxacilline 58           | 4                     | 3  |
| NDM1                    | 9                     | 7  |



**Figure 54. Mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines seuls.**

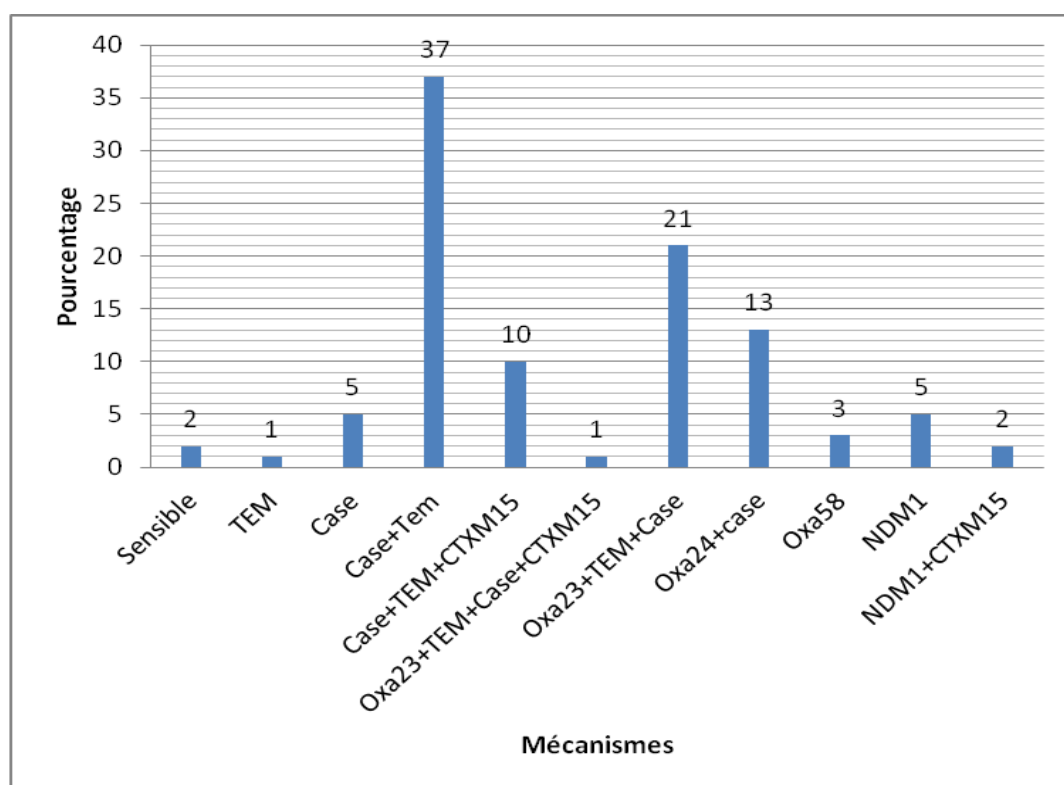
La céphalosporinase AmpC domine suivie de la pénicilline Tem, suivies des oxacillines 23. Seules 2% des souches sont sensibles à toutes les  $\beta$ -lactamines.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**XI.6.1.2. Répartition des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, (associés ou non) en fonction des phénotypes obtenus par années. (Total des souches 128)**

**Tableau 29. Répartition des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, (associés ou non) en fonction des phénotypes par années.**

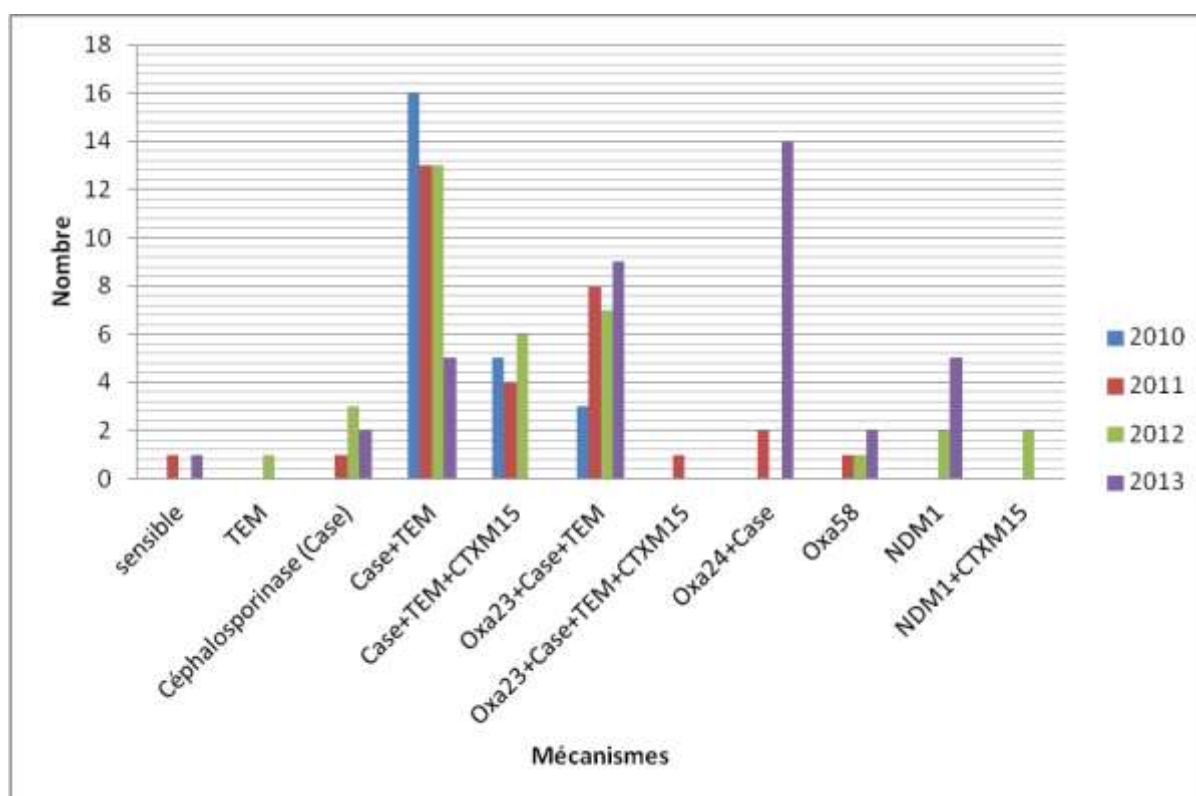
| Années<br>Mécanismes    | 2010      |   | 2011      |    | 2012      |    | 2013      |    | Total      |    |
|-------------------------|-----------|---|-----------|----|-----------|----|-----------|----|------------|----|
|                         | N         | % | N         | %  | N         | %  | N         | %  | N          | %  |
| sensible                | 0         | - | 1         | 3  | 0         | 0  | 1         | 3  | 2          | 2  |
| Pénicillinase TEM (TEM) | 0         | - | 0         | 0  | 1         | 3  | 0         | 0  | 1          | 1  |
| Céphalosporinase (Case) | 0         | - | 1         | 3  | 3         | 9  | 2         | 6  | 6          | 5  |
| Case+TEM                | 16        | - | 13        | 42 | 13        | 37 | 5         | 13 | 47         | 37 |
| Case+TEM+CTXM15         | 5         | - | 4         | 10 | 6         | 17 | 0         | 0  | 15         | 10 |
| Oxa23+Case+TEM          | 3         | - | 8         | 29 | 7         | 17 | 9         | 24 | 27         | 21 |
| Oxa23+Case+TEM+CTXM15   | 0         | - | 1         | 3  | 0         | 0  | 0         | 0  | 1          | 1  |
| Oxa24+Case              | 0         | - | 2         | 6  | 0         | 0  | 14        | 37 | 16         | 13 |
| Oxa58                   | 0         | - | 1         | 3  | 1         | 3  | 2         | 6  | 4          | 3  |
| NDM1                    | 0         | - | 0         | 0  | 2         | 5  | 5         | 13 | 7          | 5  |
| NDM1+CTXM15             | 0         | - | 0         | 0  | 2         | 5  | 0         | 0  | 2          | 2  |
| <b>Total (N)</b>        | <b>24</b> |   | <b>31</b> |    | <b>35</b> |    | <b>38</b> |    | <b>128</b> |    |



**Figure 55. Mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines associés.**

Plusieurs mécanismes associés sont retrouvés. Les mécanismes associés Céphalosporinase plus pénicillinase TEM dominant, suivis des carbapénèmases Oxacilinase 23, associées aux mécanismes cités ci-dessus. (Pourcentage calculé sur un total de 128 souches)

### XI.6.1.3. Evolution des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines par années



**Figure 56. Evolution des mécanismes résistance aux  $\beta$ -lactamines par années.**

Les mécanismes céphalosporinase +pénicillinase TEM tend à diminuer de 2010 à 2013 alors que toutes les carbapénèmases sont présentes en 2013.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**XI.6.1.4. Test statistique** : un test de tendance du KHI2 concernant l'évolution des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines a été effectué en se basant sur les données du tableau 29.

**Tableau 30. Mécanismes de résistance des  $\beta$ -lactamines pour lesquels l'évolution n'est pas significative de 2010 à 2013.**

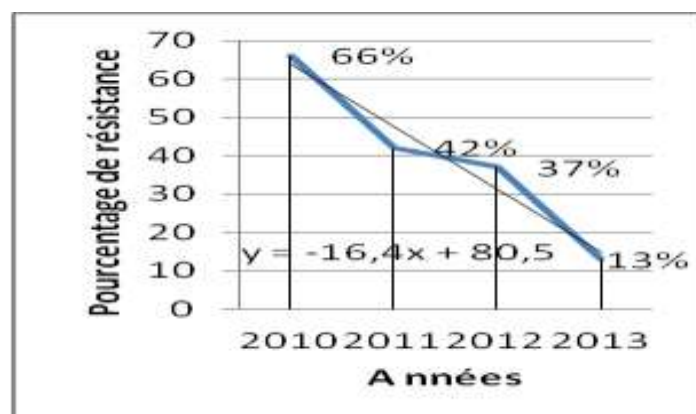
| Valeur de la tendance du KHI 2<br>Mécanismes génétiques | P    |
|---------------------------------------------------------|------|
| Oxa 23+case+tem+BLSE                                    | 0,53 |
| Oxa23+case+tem                                          | 0,54 |
| Case                                                    | 0,28 |
| Oxa 58                                                  | 0,28 |
| sensible                                                | 0,67 |
| TEM                                                     | 0,76 |
| NDM1+BLSE                                               | 0,67 |

L'évolution est significative quand P est inférieur à 0,05, pour ces mécanismes, l'évolution est stable durant les quatre années, constante. Les différences constatées dans le tableau 29 ne sont pas significatives. ( P : valeur de tendance du Khi 2)

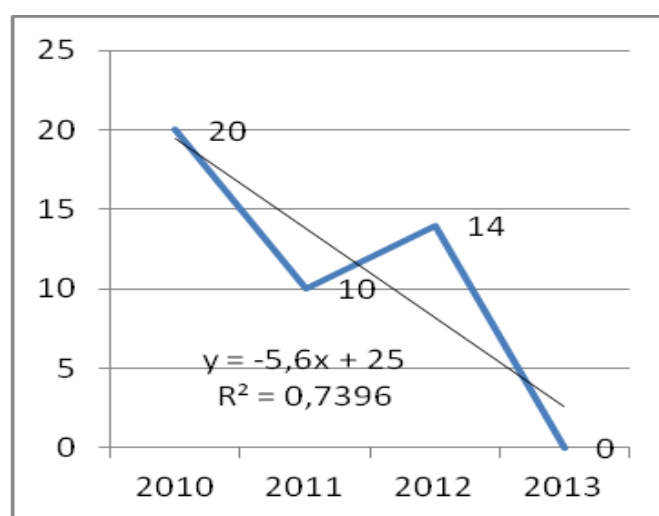
**Tableau 31. Mécanismes génétiques des  $\beta$ -lactamines pour lesquels l'évolution est significative**

| Valeur tendance du Khi 2<br>Mécanisme génétique | P       |
|-------------------------------------------------|---------|
| case+tem                                        | 0,00003 |
| case+tem+BLSE                                   | 0,01    |
| oxa 24+case                                     | 0,001   |
| NDM1                                            | 0,00003 |

P: valeur de tendance du Khi 2

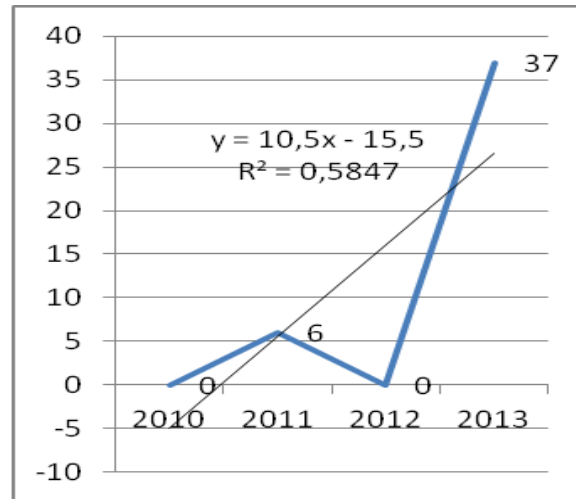


**Figure 57. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme Céphalosporinase+pénicillinase TEM**

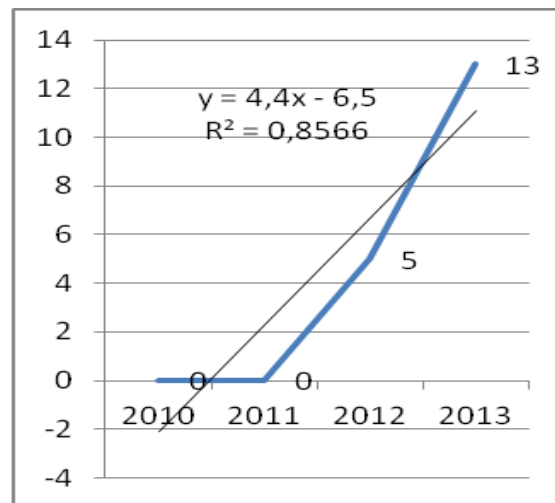


**Figure 58. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme Case+TEM +BLSE**

Les mécanismes céphalosporinase pénicillinase, céphalosporinase+pénicillinase+BLSE sont en nette diminution au fil des années. Cette diminution est significative, confirmée par les courbes de tendance ci-dessus.



**Figure 59. Courbe de l'évolution tendance du mécanisme Oxacillinase 24+céphalosporinase**



**Figure 60. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme NDM1**

Les mécanismes oxacillinase 24 +céphalosporinase est en nette augmentation au fil des 4 années, cette augmentation est significative, confirmée par la courbe de tendance ci-dessus .

Le mécanisme NDM1 est en nette augmentation au fil des 4 années cette augmentation est significative, confirmée par la courbe de tendance ci-dessus.

Conclusion :Le test de tendance du Khi 2 révèle que :

**Pour les  $\beta$ -lactamines** : le mécanisme de la cephalosporinase associé à la penicillinase diminue de manière significative au cours des 4 ans, alors que les mécanismes oxacillinases 24, NDM1 apparaissent en progression de manière significative et donc épidémique. les autres mécanismes sont constants , stables et évoluent de manière endémique.

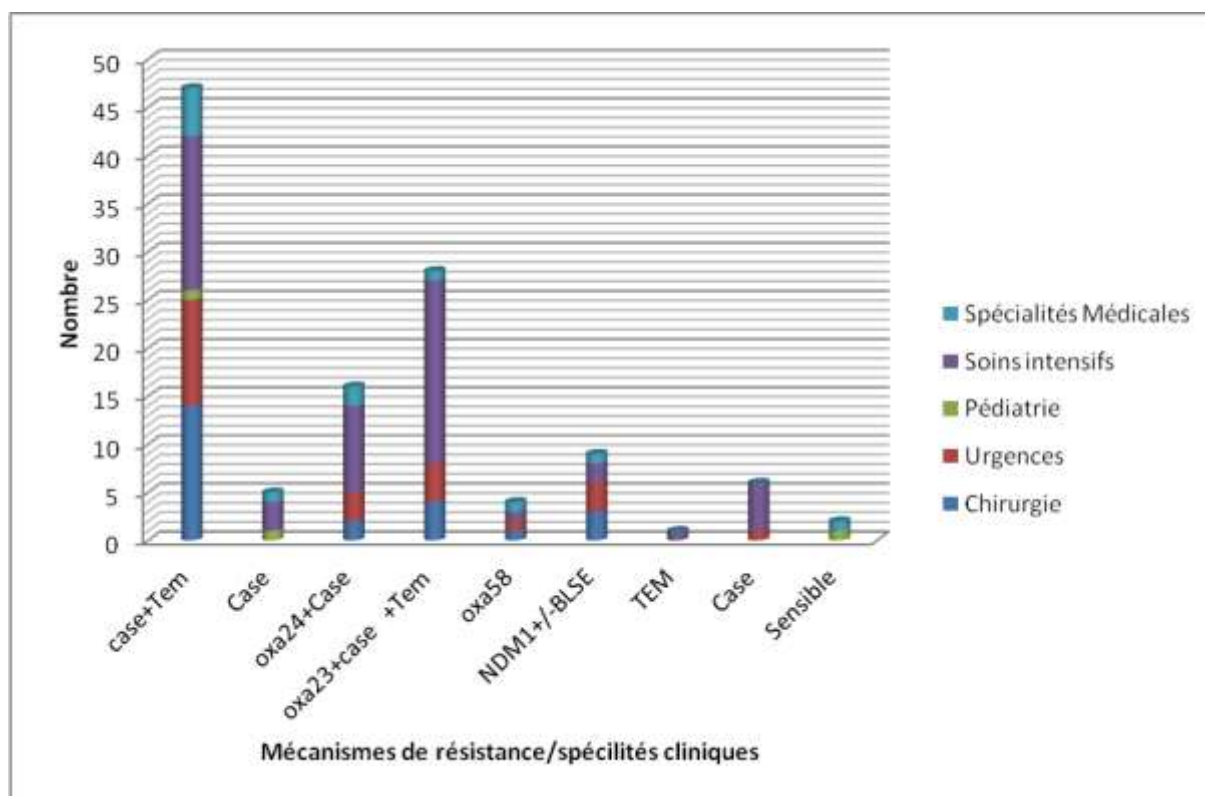
## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.6.1.5. Répartition des mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines par spécialités cliniques

**Tableau 32. Répartition des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines par spécialités cliniques**

| Mécanismes<br>Spécialités cliniques | case+Tem<br>N | Case<br>+Tem<br>+ $\beta$ LSE<br>N | oxa24+Case<br>N | oxa23+case<br>+Tem<br>N | oxa58<br>N  | NDM1+/-BLSE<br>N | Tem<br>N    | Case<br>N   | Sensible<br>N | Total      |
|-------------------------------------|---------------|------------------------------------|-----------------|-------------------------|-------------|------------------|-------------|-------------|---------------|------------|
| Chirurgie                           | 14            | 3                                  | 2               | 4                       | 1           | 3                | 0           | 0           | 0             | 27         |
| Urgences                            | 11            | 7                                  | 3               | 4                       | 1           | 3                | 0           | 1           | 0             | 30         |
| Pédiatrie                           | 1             | 1                                  | 0               | 0                       | 0           | 0                | 0           | 0           | 1             | 3          |
| Soins intensifs                     | 16            | 3                                  | 9               | 19                      | 1           | 2                | 1           | 5           | 0             | 56         |
| Spécialités Médicales               | 5             | 1                                  | 2               | 1                       | 1           | 1                | 0           | 0           | 1             | 12         |
| <b>TOTAL N(%)</b>                   | <b>47(38)</b> | <b>15(12)</b>                      | <b>16(13)</b>   | <b>28(22)</b>           | <b>4(3)</b> | <b>9(7)</b>      | <b>1(1)</b> | <b>6(5)</b> | <b>2(2)</b>   | <b>128</b> |

Case: Céphalosporinase, Tem: Pénicillinase Tem, oxa: oxacillinase



**Figure 61. Répartition des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines par spécialités cliniques.**

Tous les mécanismes sont présents en soins intensifs, alors que le mécanisme le plus fréquent (céphalosporinase+pénicillinase TEM) est retrouvé dans toutes les spécialités.

## XI.6.2.Les aminosides

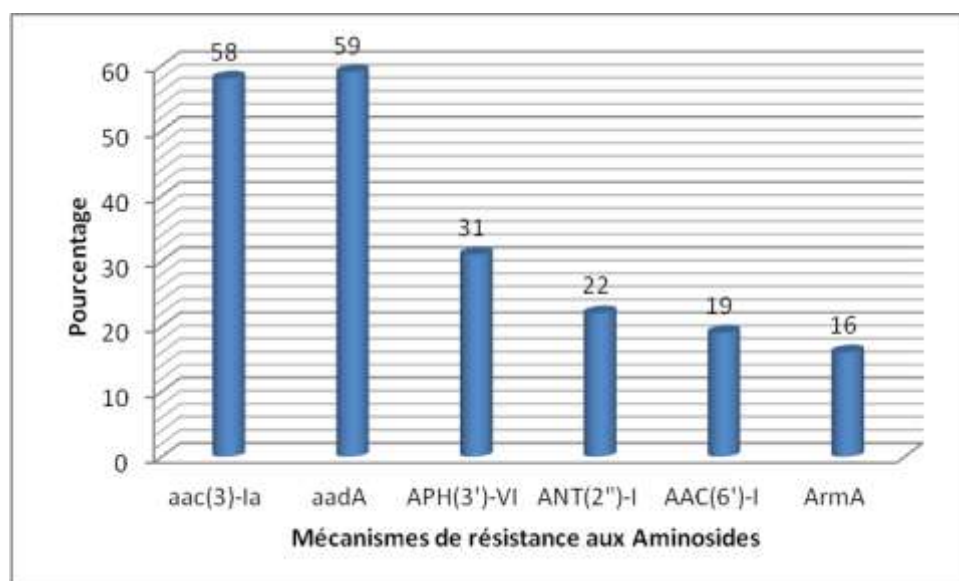
### XI.6.2.1.Mécanismes de résistance aux aminosides (non associés)

(Total des souches 128)

**Tableau 33. Mécanismes de résistance aux Aminosides (non associés)**

| Nombre et pourcentage<br>Mécanisme génétiques | N  | %  |
|-----------------------------------------------|----|----|
| aac(3)-Ia                                     | 74 | 58 |
| aadA                                          | 75 | 59 |
| APH(3')-VI                                    | 40 | 31 |
| ANT (2'')-I                                   | 28 | 22 |
| AAC(6')-I                                     | 24 | 19 |
| ArmA                                          | 21 | 16 |

aac(3)-Ia : acétylase, aadA : adénylase , APH(3')-VI : phosphorylase ,  
ANT(2'') : nucleotidyl transferrases , ArmA : méthylase



aac(3)-Ia : acétylase, aadA : adénylase , APH(3')-VI : phosphorylase ,  
ANT(2'') : nucleotidyl transferrases , ArmA : méthylase

**Figure 62. Mécanismes de résistance aux aminosides (seuls)**

L'acétylase aac (3)-Ia domine, suivie des adénylases, puis des phosphorylases.

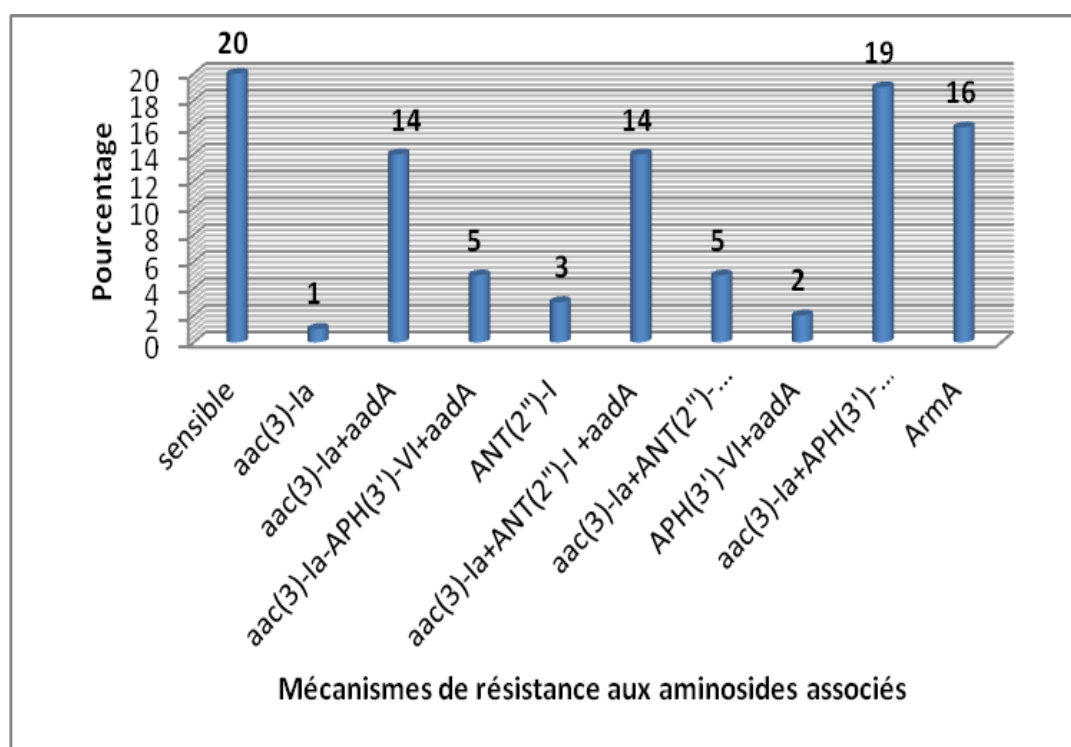
## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.6.2.2. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides (associés ou non) selon les phénotypes par années.

**Tableau 34. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides, (associés ou non) en fonction des phénotypes par années**

| Année \ Mécanismes de résistance     | 2010      |   | 2011      |    | 2012      |    | 2013      |    | Total      |    |
|--------------------------------------|-----------|---|-----------|----|-----------|----|-----------|----|------------|----|
|                                      | N         | % | N         | %  | N         | %  | N         | %  | N          | %  |
| Sensible                             | 3         | - | 3         | 10 | 9         | 25 | 11        | 29 | 26         | 20 |
| aac(3)-Ia                            | 0         | - | 0         | 0  | 1         | 3  | 0         | 0  | 1          | 1  |
| aac(3)-Ia+aadA                       | 2         | - | 5         | 16 | 6         | 17 | 4         | 11 | 17         | 14 |
| aac(3)-Ia-APH(3')-VI+aadA            | 3         | - | 1         | 3  | 2         | 6  | 1         | 3  | 7          | 5  |
| ANT (2'')-I                          | 1         | - | 0         | 0  | 2         | 6  | 2         | 5  | 5          | 3  |
| aac(3)-Ia+ANT(2'')-I +aadA           | 5         | - | 8         | 25 | 5         | 14 | 0         | 0  | 18         | 14 |
| aac(3)-Ia+ANT(2'')-I+APH(3')-VI+aadA | 4         | - | 1         | 3  | 1         | 3  | 1         | 3  | 7          | 5  |
| APH (3')-VI+aadA                     | 1         | - | 0         | 0  | 0         | 0  | 1         | 3  | 2          | 2  |
| aac(3)-Ia+APH(3')-VI+AAC(6')-I+aadA  | 1         | - | 5         | 16 | 4         | 11 | 14        | 37 | 24         | 19 |
| ArmA                                 | 4         | - | 8         | 26 | 5         | 14 | 4         | 11 | 21         | 16 |
| <b>TOTAL(N)</b>                      | <b>24</b> |   | <b>31</b> |    | <b>35</b> |    | <b>38</b> |    | <b>128</b> |    |

aac(3)-Ia : acétylase, aadA : adénylase , APH(3')-VI : phosphorylase ,  
ANT(2'') : nucleotidyl transferrases , ArmA : méthylase



aac(3)-Ia : acéthylase, aadA : adénylase , APH(3')-VI : phosphorylase ,  
 ANT(2'') : nucleotidyl transferrases , ArmA : méthylase

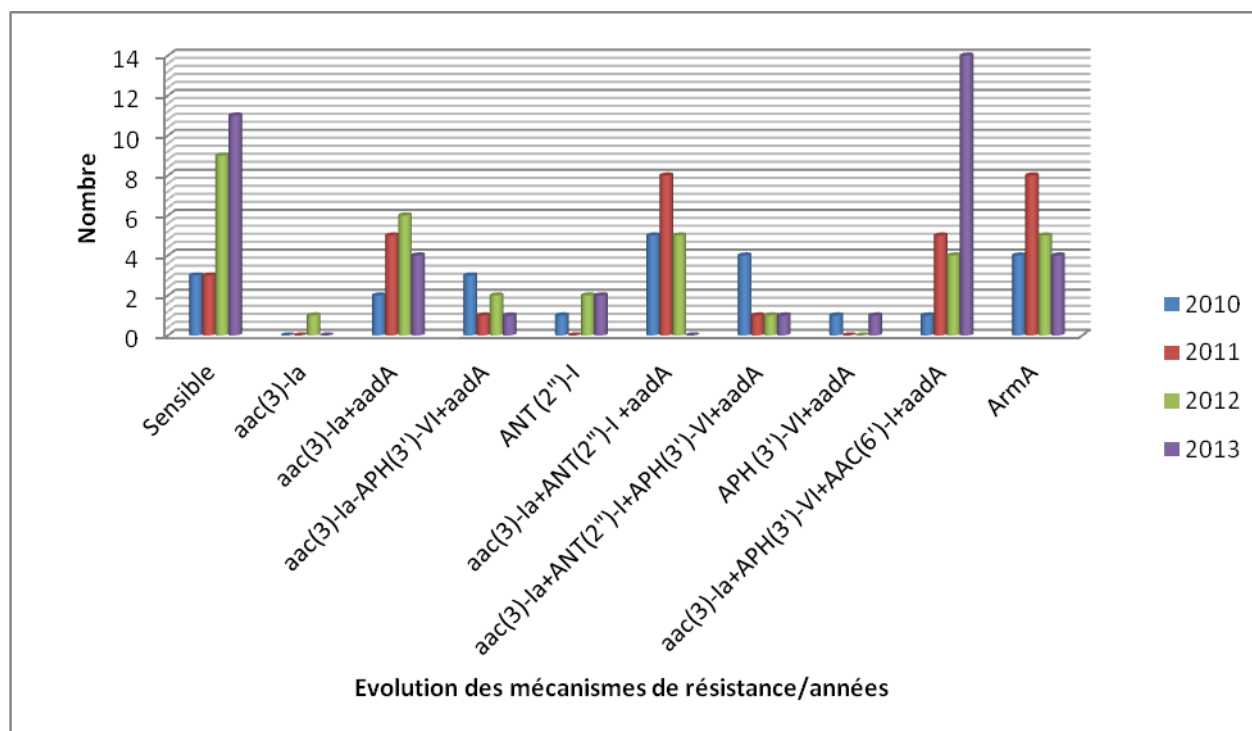
**Figure 63. Mécanismes de résistance aux aminosides selon les phénotypes.** (Total des souches 128)

Les mécanismes associés sont nombreux, doubles, triples, quadruples.

Il est à noter la prédominance du phénotype sensible, des 128 souches pour cette famille.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.6.2.3. Evolution des mécanismes de résistance aux aminosides par années.



aac(3)-Ia : acéthylase, aadA : adénylase , APH(3')-VI : phosphorylase ,  
ANT(2'') : nucleotidyl transferrases , ArmA : méthylase

**Figure 64. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides de 2010 à 2013.**

**XI.6.2.4. Test statistique** Le test du Khi-2 a été calculé sur la base des données du tableau 34 .

**Tableau 35. Mécanismes de résistance aux aminosides pour lesquels l'évolution au cours des quatre années n'est pas significative**

| Valeur de P<br>mécanisme   | P    |
|----------------------------|------|
| aac(3)-Ia                  | 0,76 |
| aac(3)-Ia+aadA             | 0,91 |
| aac(3)-Ia +APH(3')-VI+aadA | 0,18 |
| ANT (2'')-I                | 0,5  |
| APH (3')-VI+aadA           | 0,81 |
| ArmA                       | 0,24 |

P : valeur de tendance du KHI2

La valeur de tendance du KHI2 P est supérieur à 0,05.

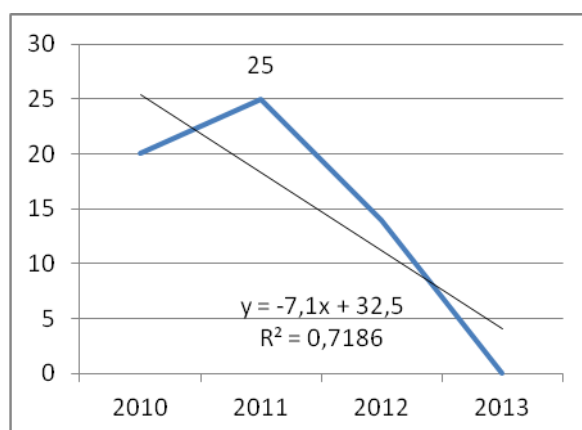
## CHAPITRE XI : RESULTATS

**Tableau 36. Mécanismes (associés) de résistance aux aminosides pour lesquels l'évolution est significative**

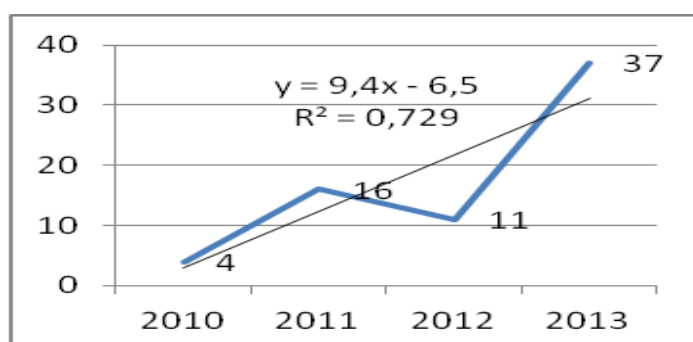
| Mécanismes                           | Valeur de P |
|--------------------------------------|-------------|
| aac(3)-Ia+ANT(2'')-I +aadA           | 0,004       |
| aac(3)-Ia+ANT(2'')-I+APH(3')-VI+aadA | 0,04        |
| aac(3)-Ia+APH(3')-VI+AAC(6')-I+aadA  | 0,002       |

aac(3)-Ia : acétylase, aadA : adénylase , APH(3')-VI : phosphorylase ,  
ANT(2'') : nucleotidyl transferrases , ArmA : méthylase

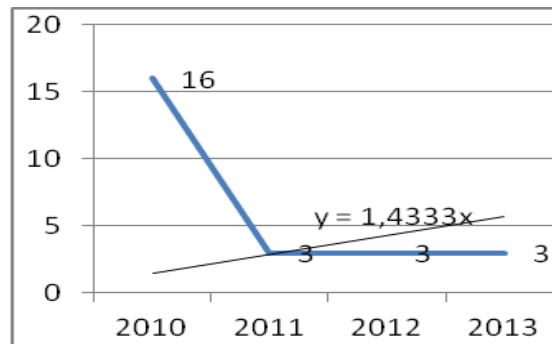
Les mécanisme associés **aac (3)-Ia+ANT(2'')-I +aadA** sont en nette diminution, confirmé par la courbe de tendance en regression ci dessous.



**Figure 65. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme  
aac (3)-Ia+ANT (2'')-I +aadA**



**Figure 66. Courbe de tendance de l'évolution du mécanisme  
aac(3)-Ia+APH(3')-VI+AAC(6')-I+aadA**



**Figure 67.courbe de tendance du mécanisme  
aac(3)-Ia+ANT(2'')-I+APH(3')- VI+aadA**

Le mécanisme aac(3)-Ia+APH (3')-VI+AAC(6')-I+aadA augmente de manière significative au cours des quatre années confirmé par la courbe de tendance ascendante.(figure 66)

Le mécanisme aac(3)-Ia+ANT (2'')-I+APH(3')-VI+aadA tend à disparaître,confirmé par la courbe de tendance en régression.(figure 67)

Conclusion : Le test de tendance du Khi 2 révèle que :

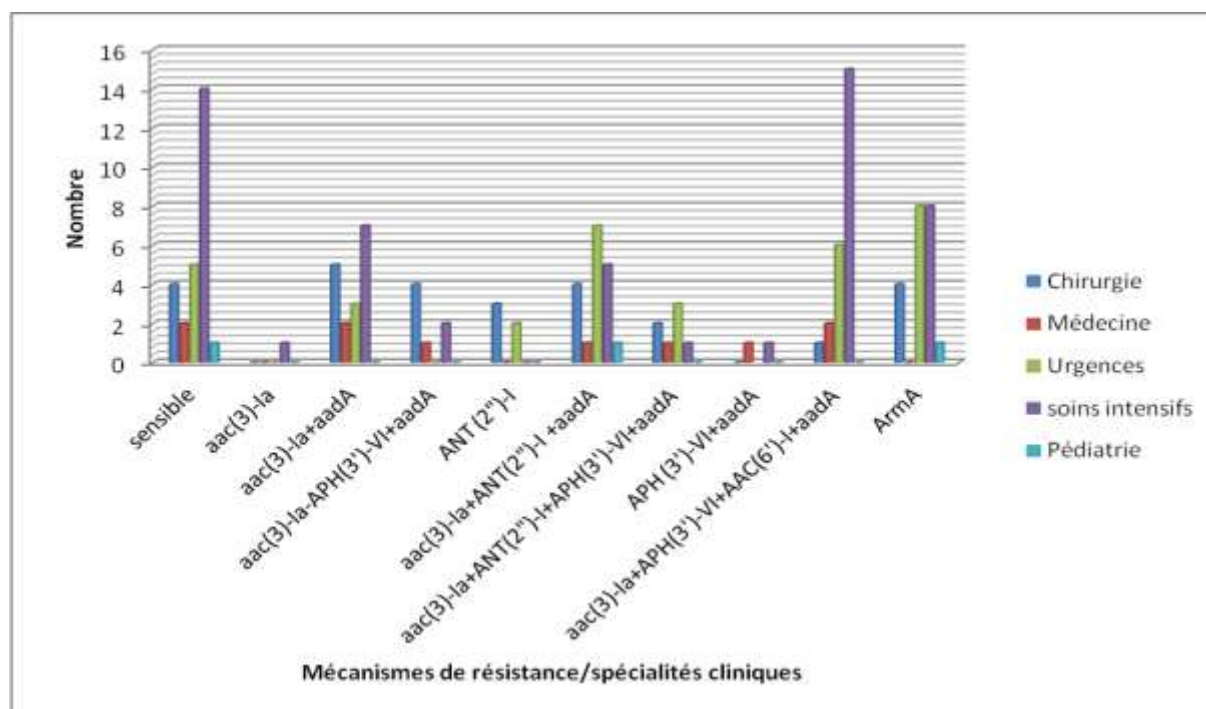
**Pour les Aminositides** : des mécanismes apparaissent de manière progressive et évoluent de manière significative.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.6.2.5.Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides par spécialités cliniques

**Tableau 37. Répartition des mécanismes de résistance aux Aminosides par spécialités cliniques en pourcentage des 128 souches**

| Mécanisme de résistance \ Spécialités clinique | Spécialités chirurgicales | Spécialités médicales | Urgences | Soins intensifs | Pédiatrie | Total  |
|------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------|----------|-----------------|-----------|--------|
|                                                | N                         | N                     | N        | N               | N         | N(%)   |
| sensible                                       | 4                         | 2                     | 5        | 14              | 1         | 26(20) |
| aac(3)-Ia                                      | 0                         | 0                     | 0        | 1               | 0         | 1(1)   |
| aac(3)-Ia+aadA                                 | 5                         | 2                     | 3        | 7               | 0         | 17(14) |
| aac(3)-Ia-APH(3')-VI+aadA                      | 4                         | 1                     | 0        | 2               | 0         | 7(5)   |
| ANT (2'')-I                                    | 3                         | 0                     | 2        | 0               | 0         | 5(3)   |
| aac(3)-Ia+ANT(2'')-I +aadA                     | 4                         | 1                     | 7        | 5               | 1         | 18(14) |
| aac(3)-Ia+ANT(2'')-I+APH(3')-VI+aadA           | 2                         | 1                     | 3        | 1               | 0         | 7(5)   |
| APH (3')-VI+aadA                               | 0                         | 1                     |          | 1               | 0         | 2(2)   |
| aac(3)-Ia+APH(3')-VI+AAC(6')-I+aadA            | 1                         | 2                     | 6        | 15              | 0         | 24(19) |
| ArmA                                           | 4                         | 0                     | 8        | 8               | 1         | 21(16) |
| Total                                          | 27                        | 10                    | 34       | 54              | 3         | 128    |



**Figure 68. Répartition des mécanismes de résistance aux aminosides par spécialité cliniques**

## CHAPITRE XI : RESULTATS

Les mécanismes sont répartis dans toutes les spécialités, surtout en soins intensifs.

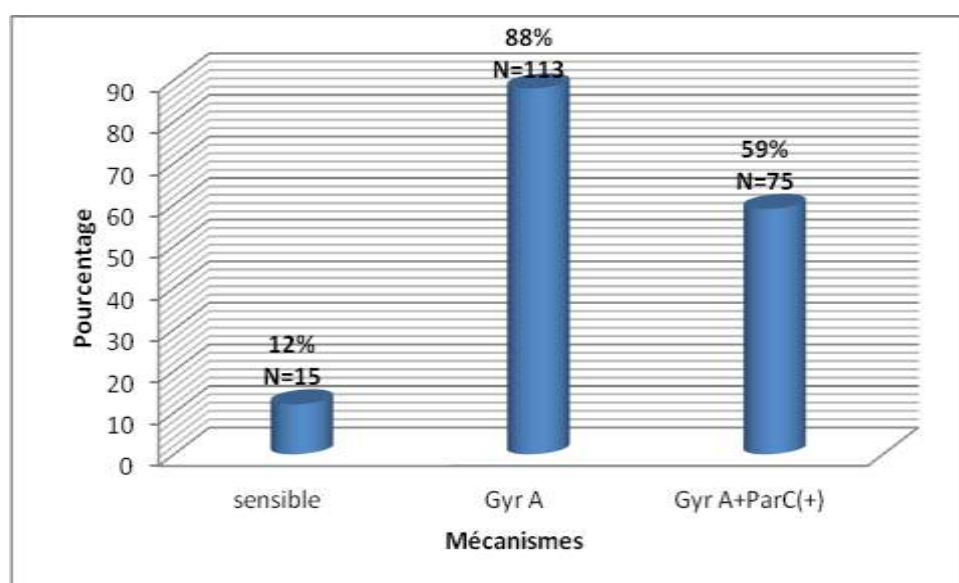
### XI.6.3.Les quinolones :

#### XI.6.3.1.Mécanismes de résistances aux quinolones seuls (non associés) (total des souches 128)

**Tableau 38. Mécanismes de résistance aux quinolones seuls des 128 souches.**

| Pourcentage<br>et Nombre | N   | %  |
|--------------------------|-----|----|
| Génotype                 |     |    |
| sensible                 | 15  | 12 |
| Gyr A                    | 113 | 88 |
| Gyr A+ParC(+)            | 75  | 59 |

Gyr A : gyrase A ; ParC(+) : surexpression de la Gyrase A



**Figure 69. Mécanismes de résistance aux quinolones (seuls)**

Le mécanisme GyrA, domine, suivi de sa surexpression GyrA+ParC(+), très peu de souches sont sensibles aux quinolones.

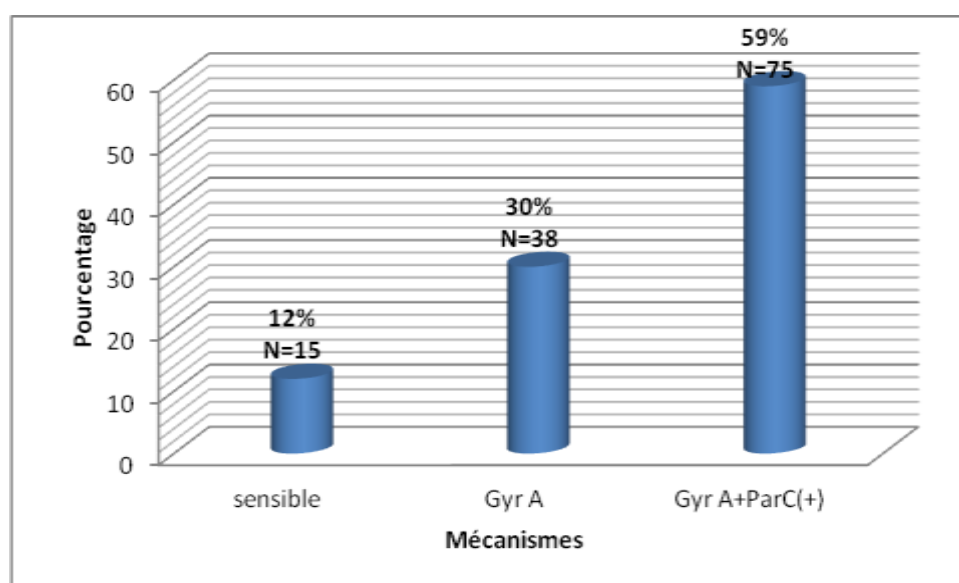
## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.6.3.2. Répartition des mécanismes de résistance aux Quinolones (associés ou non) selon les phénotypes par années.

(total des souches 128)

**Tableau 39. Répartition des mécanismes de résistance (associés ou non) aux quinolones selon les phénotypes.**

| Années<br>Mécanismes<br>Génétiques | 2010 |   | 2011 |    | 2012 |    | 2013 |    | Total |    |
|------------------------------------|------|---|------|----|------|----|------|----|-------|----|
|                                    | N    | % | N    | %  | N    | %  | N    | %  | N     | %  |
| sensible                           | 6    | - | 4    | 13 | 4    | 3  | 1    | 1  | 15    | 12 |
| Gyr A                              | 9    | - | 4    | 13 | 9    | 25 | 16   | 44 | 38    | 30 |
| Gyr A+ParC(+)                      | 9    | - | 23   | 74 | 22   | 62 | 21   | 55 | 75    | 59 |
| Total(N)                           | 24   |   | 31   |    | 35   |    | 38   |    | 128   |    |



**Figure 70. Mécanismes de résistance aux quinolones selon les phénotypes**

59% des souches hébergent le mécanisme GyrA+ParC (+), qui confère un haut niveau de résistance aux quinolones.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

### XI.6.3.3. Evolution des mécanismes de résistance aux quinolones par années

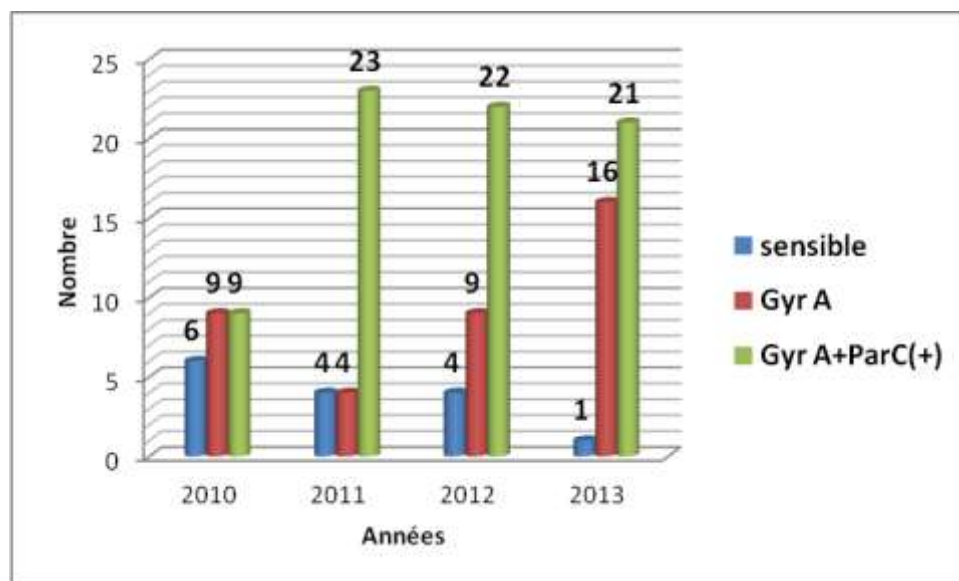


Figure 71. Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par années .

**XI.6.3.4. Test statistique** le test de tendance du KHI2 A été pratiqué à partir des données du tableau 39

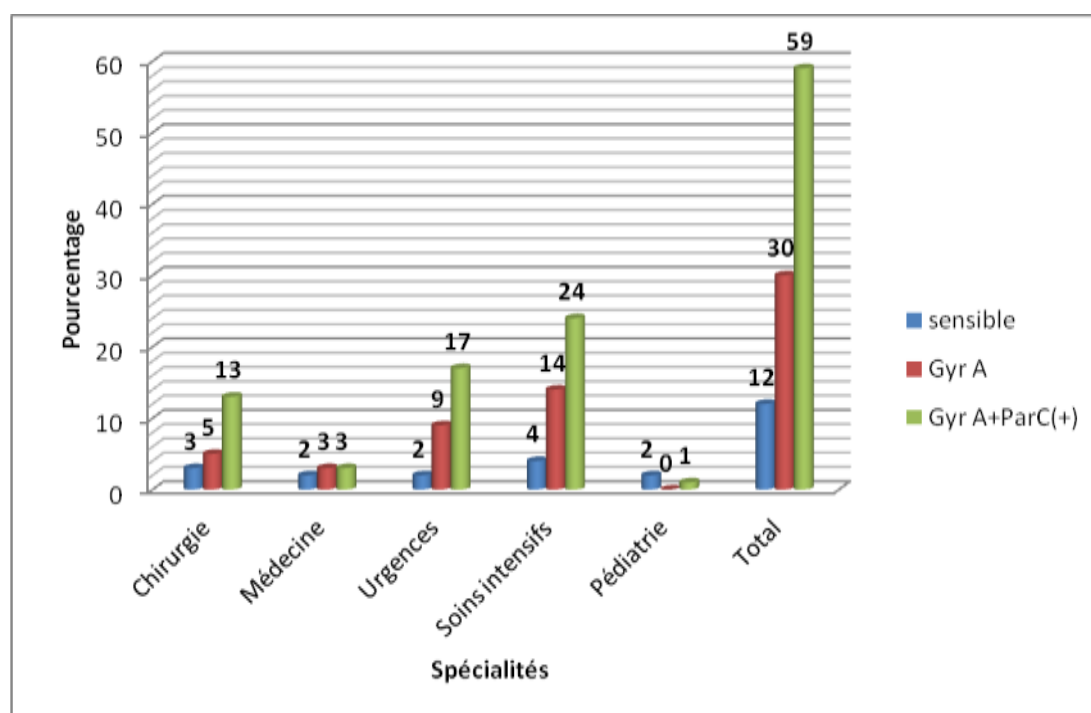
les mécanismes gyrA et gyrA+Par(C) ont une valeur de tendance du KHI-2 P supérieur à 0,05, donc leur évolution n'est pas significative au fil des 4 années, elle est constante à un taux élevé.

### XI.6.3.5. Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par spécialités cliniques. (Total des souches 128)

Tableau 40. Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par spécialités cliniques de 2010 à 2013 .

| <div> <div>Nombre et pourcentage/ spécialités</div> <div>Mécanismes</div> </div> | Chirurgie |    | Médecine |   | Urgences |    | Soins intensifs |    | Pédiatrie |   | Total |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------|----|----------|---|----------|----|-----------------|----|-----------|---|-------|----|
|                                                                                  | N         | %  | N        | % | N        | %  | N               | %  | N         | % | N     | %  |
| sensible                                                                         | 4         | 3  | 2        | 2 | 2        | 2  | 5               | 4  | 2         | 2 | 15    | 12 |
| gyrA                                                                             | 6         | 5  | 4        | 3 | 10       | 9  | 18              | 14 | 0         | 0 | 38    | 30 |
| gyrA+Parc+                                                                       | 17        | 13 | 4        | 3 | 22       | 17 | 31              | 24 | 1         | 1 | 75    | 59 |
| Total                                                                            | 27        | 21 | 10       | 8 | 34       | 28 | 54              | 42 | 3         | 3 |       |    |

## CHAPITRE XI : RESULTATS



**Figure 72. Répartition des mécanismes de résistance aux quinolones par spécialités cliniques.**

### XI.7. Résultats des souches de 2000 et 2001.

Les souches conservées de 2000 et 2001 sont au nombre de six réparties comme suit.

**Tableau 41. Répartition des souches de 2000 et 2001 par sites anatomiques, par secteur de soins et mécanismes de résistance aux antibiotiques.**

| Numéro /année d'isolement | Type de prélèvement   | Service              | Mécanisme de résistance aux $\beta$ -lactamines | Mécanisme de résistance aux Aminositides | Mécanisme de résistance aux quinolones |
|---------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|
| 190/2001                  | Aspiration bronchique | Réanimation Médicale | Pénicillinase TEM128                            | Sensible                                 | Sensible                               |
| 7981/2001                 | Aspiration bronchique | Réanimation Médicale | Pénicillinase TEM128                            | aacA(l) 3'                               | Sensible                               |
| 4476/2001                 | Aspiration bronchique | Réanimation Médicale | BLSE:CTXM 15                                    | Méthylase 16s : ArmA                     | Sensible                               |
| 5253/2001                 | Urines                | Pédiatrie            | BLSE:CTXM 15                                    | Méthylase 16s : ArmA                     | Sensible                               |
| 5806/2001                 | Aspiration bronchique | Réanimation Médicale | Case AmpC                                       | aac(l) 3'                                | Sensible                               |
| 3874/2000                 | Aspiration bronchique | Réanimation Médicale | Case AmpC                                       | Aaac(l) 3'                               | Sensible                               |

## CHAPITRE XI : RESULTATS

---

Les souches conservées de 2001, proviennent toutes des soins intensifs, donc réanimation médicale seul service de soins intensifs en 2001.

L'aspiration bronchique, constitue le principal prélèvement d'où est isolé *Acinetobacter baumannii*, sur ces souches.

Les souches de 2000 et 2001, présentent des résistances aux  $\beta$ -lactamines et aminosides, mais sont sensibles aux nouvelles quinolones , molécules non encore introduites en Algérie en 2001.

Remarque : parmi ces souches de 2000 et 2001 (tableau 41) il faut noter la présence des mécanismes BLSE type CTXM15 , mais également la méthylase ArmA, deux mécanismes décrits pour la première fois au niveau mondial pour *Acinetobacter baumannii* respectivement qu'en 2011 et 2003 .

### XI.8. Résultats de l'étude phylogénique ( clonalité ou génotypage) :

Trois techniques de génotypage ont été pratiquées dans notre étude :

- la technique de génotypage par sequence base typing *bla<sub>oxa51</sub>*.
- l'électrophorese en champs pulsé ou PFGE.
- MLVA.

Chaque technique a apporté des éléments qui nous ont permis d'effectuer notre étude phylogénique. Pour les deux premières techniques nous avons fait tester les mêmes souches afin de faire une comparaison,et confirmer les résultats de chacune des techniques.

#### XI.8.1.Résultat de la *bla<sub>OXA51</sub>* séquence base typing :

Cette technique requiert deux étapes : une PCR, confirmant la présence de l'oxacillinase naturelle 51 et un séquençage des produits de PCR purifiés afin de définir le variant de cette oxacillinase 51.

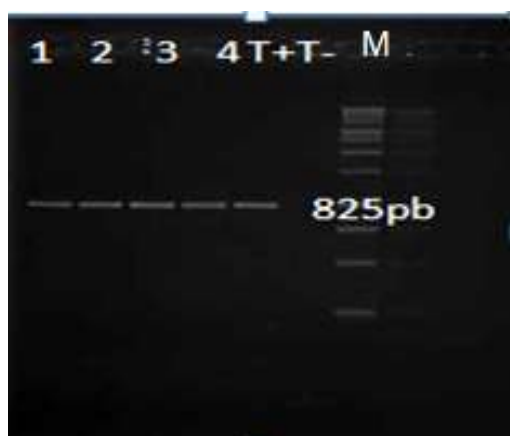


Figure 73 .PCR simplex Oxa 69

PCR : 1 :souche 17/2012 2 :souche 7981/2001 3 :souche 401/2013 4 :souche 6234/2011  
T+ :oxacillinase 69(souche 17/2012) T- :Témoin négatif Marqueur de taille 100pb

Les souches 1, 2, 3, 4 hébergent l'oxacillinase naturelle *bla<sub>oxa51</sub>*, mise en évidence par les amorces OXA69, l'oxacillinase 69 est un variant très proche de l'oxacillinase naturelle 51.

Les produits de la PCR ont été purifiés en vue du séquençage, lequel a déterminé le variant de l'oxacillinase 51, de ces souches, ce qui a permis de les classer dans les différents clones ou complexes clonaux existants.

Toutes ces souches ont subi également une PFGE,à part une seule (3165/2013).

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**Tableau 42. Résultat du séquençage des produits purifiés de la PCR  
Oxa 69**

| N° | Numéro référence | Année d'isolement | service                | Type de prlvt         | Mécanisme de Resistance aux $\beta$ -lactamines | Variant de l'oxacillinase naturelle 51 après sequençage |
|----|------------------|-------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 1  | 7981             | 2001              | Réa-medicale           | Aspiration bronchique | Pénicillinase TEM(tem)                          | Oxa371                                                  |
| 2  | 295              | 2010              | Neurochgie             | urines                | Case+tem                                        | Oxa 371                                                 |
| 3  | 6234             | 2011              | Réa-medicale           | Liquide peritonéal    | Oxa58                                           | Oxa 371                                                 |
| 4  | 2065             | 2013              | Urgences chirurgicales | Sang                  | Case+tem                                        | Oxa371                                                  |
| 5  | 3874             | 2000              | Réa-medicale           | Aspiration bronchique | Case+tem                                        | Oxa 66                                                  |
| 6  | 442              | 2010              | Réa-Medicale           | Aspiration bronchique | Case+tem                                        | Oxa 66                                                  |
| 7  | 855              | 2011              | Urgences chirurgicales | Aspiration bronchique | Case+tem                                        | Oxa 66                                                  |
| 8  | 17               | 2012              | Urgences chirurgicales | Environnement         | Oxa 23                                          | Oxa 66                                                  |
| 9  | 1034             | 2013              | Réa-medicale           | Aspiration bronchique | Oxa 24                                          | Oxa 66                                                  |
| 10 | 2547             | 2013              | Réa-Medicale           | Aspiration bronchique | Oxa 23                                          | Oxa 66                                                  |
| 11 | 2842             | 2013              | Réa-medicale           | Aspiration bronchique | Oxa 24                                          | Oxa 66                                                  |
| 12 | 3165             | 2013              | Traumatologie          | pus                   | NDM1                                            | Oxa 94                                                  |

Case : céphalosporinase.

Au total 12 souches ont subi cette technique de génotypage.

Le choix s'est porté sur des souches hébergeant les différents mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, à partir des services où il y'a eu le plus d'isolats.

On constate que trois variants principaux de l'oxacillinase naturelle 51 sont retrouvés qui sont : l'oxacillinase 371, l'oxacillinase 66 et l'oxacillinase 94, l'oxacillinase 66 domine. .

Les oxacillinas 66 font partie du clone international 2, les oxacillinas 371 font partie du clone international1, l'oxacillinase 94 est un clone singleton qui ne fait partie d'aucun complexe clonal (voir figure 10 ou 79).

Cette technique pratiquée sur peu de souches indique donc la présence d'au moins trois clones au CHU de Tizi-ouzou, et ce depuis 2000 et 2001, puisque

## CHAPITRE XI : RESULTATS

---

les souches 7981 et 3874 sont de 2001 et 2000 respectivement. Et ce pour les clones internationaux 1 et 2 notamment.

L'oxacillinase 94 classée singleton (voir figure 10 ou 79) est d'implantation récente, en 2012.

Il est à noter que les différentes carbapénémases retrouvées n'appartiennent pas aux mêmes clones (voir tableau 42)

Les carbapénémases type oxacillinases 58 sont des variants 371, la NDM1 est un variant 94, seules les oxacillinases 23 et 24 ont des variants identiques 66, et font partie du même clone.

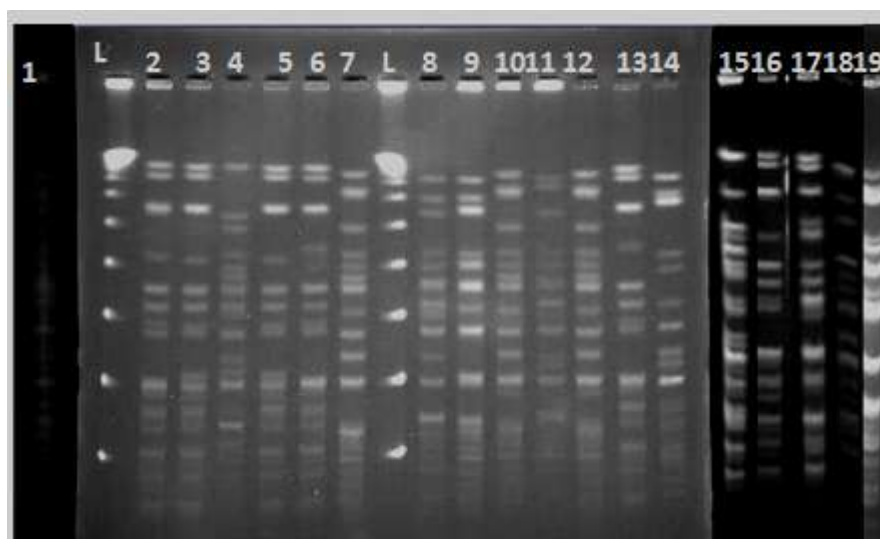
Les autres mécanismes Pénicillinase Tem, associé ou non à la céphalosporinase ont des variants 371 et 66. Deux clones différents les hébergent.

Les deux clones internationaux 1 et 2 coexistent dans les deux principaux services de réanimation médicale et d'urgences de chirurgie, alors que le variant 94 NDM1 n'est retrouvé qu'en traumatologie.

### XI.8.2.Resultats de la PFGE

- En images

Dix neuf souches isolées des différents services ont été analysées par PFGE. La provenance de chacune d'elles, dates d'isolement, ainsi que les profils de résistance sont reportés dans le tableau 43. (ci-dessous)

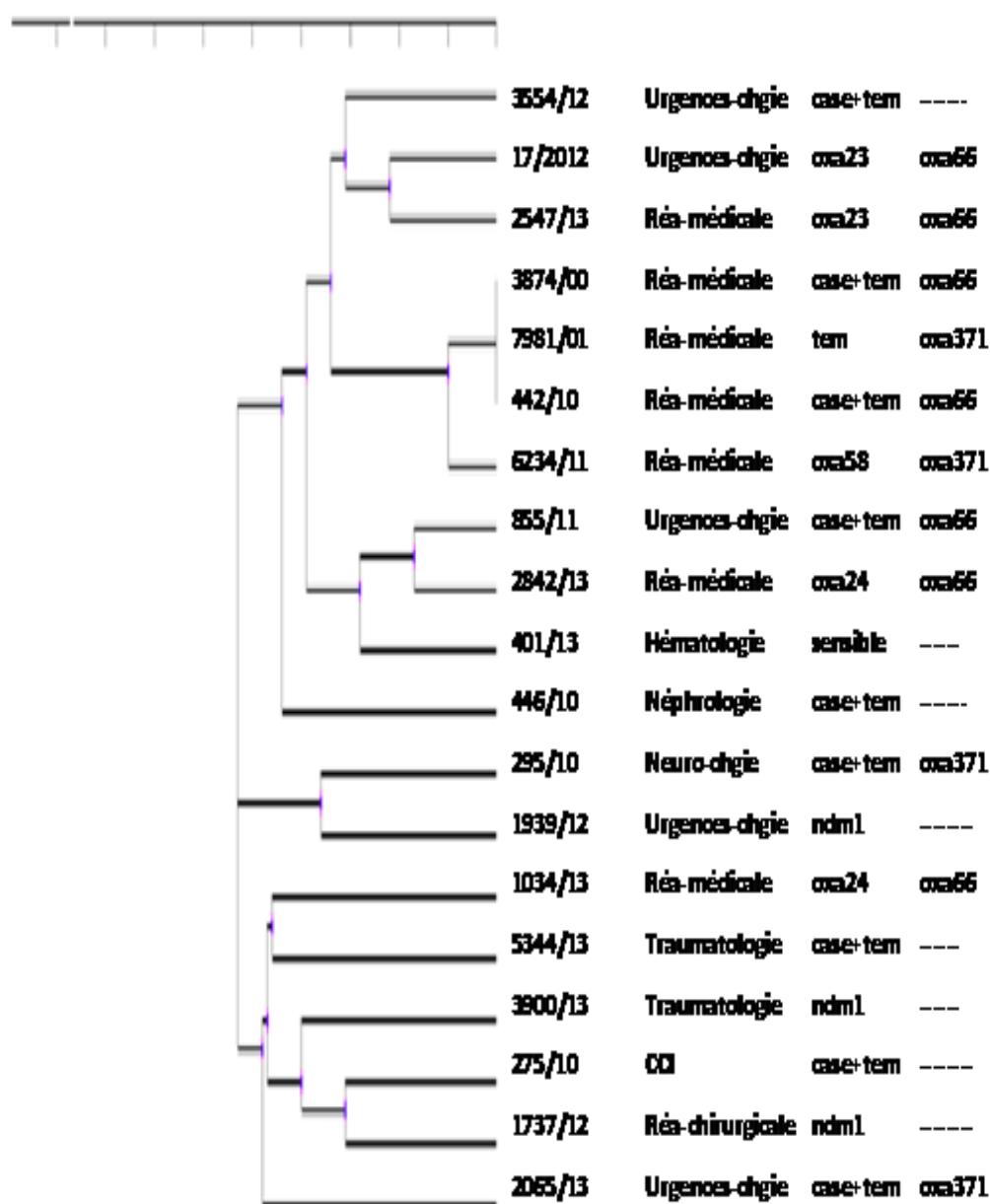


**Figure 74.Profils de Macrorestriction de l'ADN génomique par l'enzyme Apal (photo PFGE DE 19 souches CHU Tizi-ouzou/IPA)**

**1:**3554/12 **L :**Marqueur de taille 100pb **2 :** 3874/2000, **3 :**7981/2001,  
**4 :** 295/2010, **5 :** 442/2010, **6 :** 6234/2011, **7 :** 855/2011, **8 :** 17/2012,  
**9 :**2547/2013,**10 :** 1034/2013,**11 :** 5344/2013, **12:** 2842/2013,**13 :** 2065/2013,  
**14 :** 401/2013 , **15 :** 3900/2013 ,**16 :** 275/2010, **17 :**1737/2012 , **18 :**1939/2012  
**19 :** 446/2010

## CHAPITRE XI : RESULTATS

Le dendrogramme ci-après a reclassé les souches disposées sur le gel selon leur lien phylogénique.



(CCI :chirurgie infantile ;chg :chirurgie ;Réa :réanimation )

**Figure 75 . Arbre phylogénique ou dendrogramme**

Le dendrogramme a été élaboré par la méthode phylogénique de « neighbor joining ». La longueur des branches est proportionnelle au nombre de changements d'acides aminés.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**Tableau 43. Récapitulatif des résultats de la PFGE et Oxacillinase-type, reclassées selon le dendrogramme (ci-dessus).**

| Pulsotype | Numéro                      | Année | Service                  | Mécanisme de résistance aux $\beta$ -lactamines | SBT bla <sub>oxa51</sub> | Clone | Cluster PFGE |
|-----------|-----------------------------|-------|--------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------|-------|--------------|
| 1         | 3554/12                     | 2012  | Urgences de chirurgie    | Case+tem                                        | -----                    |       | A            |
| 9         | 17/12                       | 2012  | Urgences de chirurgie    | Oxa23                                           | Oxa66                    | II    | A            |
| 10        | 2547/13                     | 2013  | Réanimation-médicale     | Oxa23                                           | Oxa66                    | II    | A            |
| 2         | 3874/00                     | 2000  | Réanimation-médicale     | Case+tem                                        | Oxa66                    | II    | A            |
| 3         | 7981/01                     | 2001  | Réanimation-médicale     | Pénicillinase Tem                               | Oxa371                   | I     | A            |
| 5         | 442/10                      | 2010  | Réanimation-médicale     | Case+tem                                        | Oxa66                    | II    | A            |
| 6         | 6234/11                     | 2011  | Réanimation-médicale     | Oxa58                                           | Oxa371                   | I     | A            |
| 7         | 855/11                      | 2011  | Urgences de chirurgie    | Case+tem                                        | Oxa66                    | II    | A            |
| 13        | 2842/13                     | 2013  | Réanimation-médicale     | Oxa24                                           | Oxa66                    | II    | A            |
| 8         | Témoin de poids Moléculaire |       |                          |                                                 |                          |       |              |
| 15        | 401/13                      | 2013  | Hématologie              | Sensible                                        | -----                    |       | A            |
| 20        | 446/10                      | 2010  | Néphrologie              | Case+tem                                        | -----                    |       | A            |
| 4         | 295/10                      | 2010  | Neurochirurgie           | Case+tem                                        | Oxa371                   | I     | B            |
| 19        | 1939/12                     | 2012  | Urgences de chirurgie    | NDM1                                            | -----                    |       | B            |
| 11        | 1034/13                     | 2013  | Réanimation-médicale     | Oxa24                                           | Oxa66                    | II    | C            |
| 12        | 5344/13                     | 2013  | Traumatologie            | Case+tem                                        | -----                    |       | C            |
| 16        | 3900/13                     | 2013  | Traumatologie            | NDM1                                            | -----                    |       | C            |
| 17        | 275/10                      | 2010  | CCI                      | Case+tem                                        | -----                    |       | C            |
| 18        | 1737/12                     | 2012  | Réanimation-chirurgicale | NDM1                                            | -----                    |       | C            |
| 14        | 2065/13                     | 2013  | Urgences de chirurgie    | Case+Tem                                        | Oxa371                   | I     | C            |

Le tableau 43 indique les trois clusters qui apparaissent, sur le dendrogramme

On distinguera 3 clusters distincts : A (de 3554/2012 à 446/2010), puis B (295/2010 et 1939/2012) et C (de 1034/13 à 2065/13) pour lesquels les souches ont des profils proches.

Le dendrogramme ci-dessus (lequel est corrélé à la première technique) indique clairement la présence d'au moins trois clusters correspondants aux trois complexes clonaux retrouvés dans la technique précédente.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

---

Les souches 7981/2001, 3870/2000 et 442/2010, sont identiques génétiquement. Il semblerait qu'un même clone datant de 2000 et 2001 soit toujours présent en 2010 et ce en réanimation médicale.

La PFGE, confirme la première technique et indique que les souches qui hébergent les différentes carbapénèmases sont phylogénétiquement éloignées, de même on constate que les souches du service de réanimation médicale ont des profils proches, il en est de même pour les souches des urgences, et de chirurgie .

Le tableau (43) récapitule l'ensemble des souches ayant subi les deux techniques de génotypage PFGE, avec dix neuf souches et *bla<sub>oxa51</sub>* sequence base typing avec douze souches.

Une seule souche 3165/2013, qui est NDM1, variant Oxa 94 n'a pas subi de PFGE.(voir tableau 42)

Par ailleurs, sur les dix-neufs souches ayant subi la PFGE, huit ne sont pas typées par la technique *bla<sub>oxa51</sub>* séquence base typing.

### XI.8.3.Résultats de la MLVA



**Figure 76. PCR de la technique MLVA des cinq gènes d'ancrage pour les souches 2 et 5**

Cinq gènes (VNTR) spécifiques à *Acinetobacter baumannii*, baptisés par des numéros sont recherchés chez les deux souches 2 et 5 ces gènes sont :3530, 3002, Acicu2185, 1988, 0826 dont les poids moléculaires sont reportés sur la figure 76 respectivement de gauche à droite.

Les deux souches 2 et 5, sont similaires pour ces 5 gènes ce qui suffit pour leur attribuer un lien clonal. La technique requiert neuf gènes.

Ces cinq premiers gènes sont appelés gènes d'ancrage, le sixième, septième huitième et neuvième sont respectivement 0017, 0845, 2396, 3468 (le détail de cette technique est en annexe 10)

La technique MLVA, a été pratiquée uniquement pour les souches ayant présenté le phénotype OXA 23 lesquelles ont révélé une clonalité parfaite. Celles ci font partie du clone international II. (voir tableau 42).

En effet ce lien clonal est établi et confirmé sur le dendrogramme (figure 75), à savoir les souches 17/2012 et 2547/2013 qui sont classées l'une à proximité de l'autre . Cela établit qu'une souche de l'environnement des urgences de chirurgie est phylogéniquement reliée à une souche clinique isolée de la réanimation médicale.(voir tableau 44 ci-dessous).

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**Tableau 44. Souches hébergeant le mécanisme oxacillinase 23 (clone II)**

| N° | Année service prlv | Année d'isolement | service               | Type de prélèvement   | OXA-TYPE/CLONE             |
|----|--------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
|    | Numéro             |                   |                       |                       |                            |
| 1  | 443                | 2010              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 2  | 3308               | 2010              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 3  | 1690               | 2010              | Urgences de chirurgie | Aspiration bronchique | -----                      |
| 4  | 2658               | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 5  | 576                | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 6  | 2902               | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 7  | 3872               | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 8  | 485                | 2011              | Réanimation médicale  | Pus                   | -----                      |
| 9  | 1747               | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 10 | 1690               | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 11 | 2655               | 2011              | Réanimation médicale  | pus                   | -----                      |
| 12 | S180               | 2011              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 13 | 1726               | 2012              | Chirurgie visérale    | Aspiration bronchique | -----                      |
| 14 | 1342               | 2012              | Urgences de chirurgie | Aspiration bronchique | -----                      |
| 15 | 2911               | 2012              | Urgences chirurgie    | Aspiration bronchique | -----                      |
| 16 | 3036               | 2012              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 17 | 3852               | 2012              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 18 | 3829               | 2012              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 19 | 17                 | 2012              | Urgences de chirurgie | Environnement         | Oxacillinase66/<br>Clone 2 |
| 20 | 3600               | 2013              | urologie              | pus                   | -----                      |
| 21 | 620                | 2013              | hématologie           | sang                  | -----                      |
| 22 | 2747               | 2013              | traumatologie         | pus                   | -----                      |
| 23 | 2547               | 2013              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | Oxacillinase66/<br>Clone 2 |
| 24 | 2842               | 2013              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 25 | 4744               | 2013              | Traumatologie         | pus                   | -----                      |
| 26 | 3405               | 2013              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 27 | 3598               | 2013              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |
| 28 | 5074               | 2013              | Réanimation médicale  | Aspiration bronchique | -----                      |

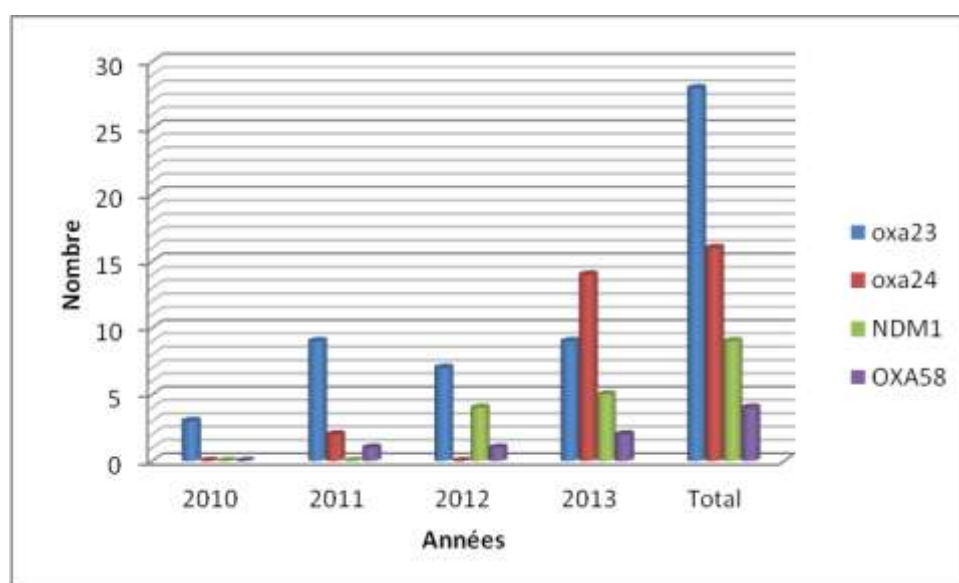
## CHAPITRE XI : RESULTATS

Les oxacillinase 23 apparaissent en même temps dans deux services et dominant sous forme épidémique en réanimation médicale et aux urgences de chirurgie et à partir de 2013 les spécialités médicales sont touchées (hématologie) ainsi que les spécialités chirurgicales.

### XI.8.4.Evolution chronologique des carbapénémases, corrélée aux clones.

**Tableau 45. Evolution chronologique des carbapénémases de 2010 à 2013..**

| Oxa<br>Années | oxa23<br>N | oxa24<br>N | NDM1<br>N | OXA58<br>N |
|---------------|------------|------------|-----------|------------|
| 2010          | 3          | 0          | 0         | 0          |
| 2011          | 9          | 2          | 0         | 1          |
| 2012          | 7          | 0          | 4         | 1          |
| 2013          | 9          | 14         | 5         | 2          |
| Total         | 28         | 16         | 9         | 4          |



**Figure 77.Evolution chronologique des carbapénémases.**

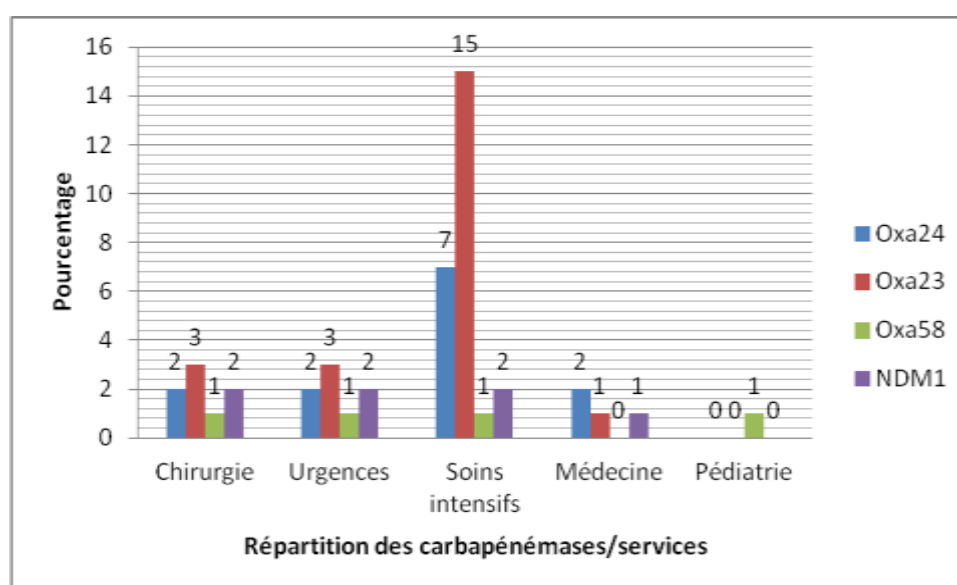
## CHAPITRE XI : RESULTATS

On observe l'apparition des oxacillines 23 dès 2010 lesquelles font partie du clone 2, et l'apparition fulgurante des oxacillines 24 en 2013 (dont deux souches font partie du clone 2, voir tableau 47 ci-dessous)

On voit l'installation progressive des oxacillines 58 de manière moindre dont une souche fait partie du clone 1 (voir tableau 49 ci-dessous) et l'implantation progressive et récente des souches NDM1, en 2012 dont une souches fait partie du clone singleton Oxa 94 (voir tableau 48 ci-dessous).

**Tableau 46. Répartition des carbapénèmes par spécialités cliniques de 2010 à 2013.**

| carbapénèmase<br>spécialité | Oxa24<br>N | Oxa23<br>N | Oxa58<br>N | NDM1<br>N |
|-----------------------------|------------|------------|------------|-----------|
| Chirurgie                   | 2          | 4          | 1          | 3         |
| Urgences                    | 3          | 4          | 1          | 3         |
| Soins intensifs             | 9          | 19         | 1          | 2         |
| Médecine                    | 2          | 1          | 0          | 1         |
| Pédiatrie                   | 0          | 0          | 1          | 0         |
| Total( N : Nombre)          | 16         | 28         | 4          | 9         |



**Figure 78. Répartition des carbapénèmes par spécialités cliniques**

## CHAPITRE XI : RESULTATS

On observe, clairement la dominance des oxacillinas 23 et 24 en soins intensifs, mais aussi leur présence dans les autres spécialités, ainsi que la présence des autres carbapénèmases dans toutes les spécialités sauf en pédiatrie.

**Tableau 47. Répartition des souches hébergeant les Oxacillinas 24 par services, par années et par sites anatomiques.**

| Numéro | Année | Service                  | Type de prélèvement   | Oxa-type/clone |
|--------|-------|--------------------------|-----------------------|----------------|
| 333    | 2011  | Neurochirurgie           | LCR                   | -----          |
| 3170   | 2011  | Urgences de chirurgie    | Pus                   |                |
| 1034   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | Oxa66/clone 2  |
| 702    | 2013  | Réanimation médicale     | Sang                  | -----          |
| 4010   | 2013  | Néphrologie              | Pus                   | -----          |
| 2842   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | -----          |
| 3937   | 2013  | Urgences de chirurgie    | Aspiration bronchique | -----          |
| 4313   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | -----          |
| 5049   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | -----          |
| 5074   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | -----          |
| 674    | 2013  | Hématologie              | Aspiration bronchique | -----          |
| 3296   | 2013  | Réanimation chirurgicale | Aspiration bronchique | -----          |
| 2296   | 2013  | Traumatologie            | pus                   | -----          |
| 4972   | 2013  | Urgences de chirurgie    | Aspiration bronchique | -----          |
| 5806   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | -----          |
| 2842   | 2013  | Réanimation médicale     | Aspiration bronchique | Oxa 66/clone2  |

Les oxacillinas 24 apparaissent dès 2011, en chirurgie, et flambent en 2013 en soins intensifs et urgences chirurgicales.

les deux souches Oxa 24 qui ont été génotypées, font partie du clone 2.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**Tableau 48.Répartition des souches NDM1, par années, par services et par sites anatomique .**

| Numéro | Année | Service                  | Type de prélèvement   | Technique de génotypage pratiquée |
|--------|-------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| 1939   | 2012  | Urgences de chirurgie    | Aspiration bronchique | PFGE                              |
| 1737   | 2012  | Réanimation chirurgicale | Aspiration bronchique | PFGE                              |
| 3971   | 2012  | Urgences de chirurgie    | Pus                   |                                   |
| 3376   | 2012  | Réanimation-médicale     | Aspiration bronchique |                                   |
| 3900   | 2013  | traumatologie            | pus                   | PFGE                              |
| 629    | 2013  | diabétologie             | urines                |                                   |
| 5583   | 2013  | traumatologie            | pus                   |                                   |
| 2907   | 2013  | Urgences-médicales       | urines                |                                   |
| 3165   | 2013  | traumatologie            | urines                | Oxa94/clone singleton             |

les souches NDM1, sont retrouvées dès 2012 principalement aux urgences mais aussi dans les spécialités chirurgicales notamment en traumatologie.

L'oxa-type de la souches 3165 est une oxacillinase 94, qui l'intègre dans un clone singleton différent de celui des oxacillinases 23 et 24.

## CHAPITRE XI : RESULTATS

**Tableau 49. Répartition des souches hébergeant les Oxacillinases 58 par années, par services et par sites anatomiques.**

| Numéro | Année | Service              | Type de prélèvement | Oxa type/clone |
|--------|-------|----------------------|---------------------|----------------|
| 6234   | 2011  | Réanimation médicale | liquide péritonéal  | oxa371/clone 1 |
| 1329   | 2012  | Traumatologie        | pus                 | -----          |
| 139    | 2013  | Urgences-médicales   | sang                | -----          |
| 1790   | 2013  | Cardiologie          | pus                 | -----          |

Les oxacillinases 58 apparaissent dès 2011 en soins intensifs, et sont présentes en 2012 et 2013. L'Oxa-type de la souche 6234, 371 l'intègre dans le clone 1.

# DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

### Discussion et perspectives

Au terme de notre travail nous constatons que *Acinetobacter baumannii* représente un modèle d'adaptation de l'environnement hospitalier et ce aussi bien par sa capacité à s'installer et à persister dans l'environnement hospitalier, mais également par sa capacité à développer des résistances aux antibiotiques.

A travers cette étude réalisée sur 128 souches collectées de 2010 à 2013 nous avons mis en évidence les mécanismes génétiques de résistance aux antibiotiques, ainsi que les liens de clonalité entre ces souches, nous avons ainsi reconstitué l'évolution de cette bactérie dans notre structure hospitalière, en essayant de cerner à travers ce germe les infections nosocomiales, et toute la problématique de l'hygiène hospitalière dans un hôpital.

#### ➤ **Evolution d'*Acinetobacter baumannii* de l'année 2000 à 2015.**

(données personnelles non publiées)

Cette évolution, et son analyse à partir de données du laboratoire (non publiées) permet de situer le contexte dans lequel notre étude a été réalisée et détermine un état des lieux de l'étude.

l'analyse de l'évolution d'*Acinetobacter baumannii* au CHU de Tizi-ouzou, à partir de l'année 2000 ( jusqu'en 2015) , parmi les germes hospitaliers , fait ressortir l'installation progressive de cette bactérie au CHU de Tizi-ouzou. Celle ci passe de 2% des isolats en 2000 à 14% en 2005.

La comparaison de l'évolution des deux germes de l'environnement hospitalier, montre la diminution « vertigineuse » de *Pseudomonas aeruginosa*, qui contraste avec l'augmentation spectaculaire d'isolats d'*Acinetobacter baumannii*, les questions sont posées est ce que ces deux germes de l'environnement hospitalier ne peuvent pas co-exister ? est ce que l'émergence d'*Acinetobacter baumannii* (qui a cette capacité de persistance

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

et de résistance dans l'environnement) a fait disparaître *Pseudomonas aeruginosa* ? Est ce que la compétition entre ces deux germes est telle que seul *Acinetobacter baumannii* a pu « s'accaparer » tous les mécanismes de résistances ainsi que les sites de l'environnement hospitalier ?

Au Total *A.baumannii*, a mis dix ans à s'installer progressivement, au CHU, a « rattrapé et évincé » *Pseudomonas aeruginosa*. Au bout de ces dix ans, *A.baumannii* a développé tous les mécanismes de résistance aux trois familles d'antibiotiques étudiées, pour atteindre le statut de BMR, en 2010 en nette progression dès 2013.

### ➤ Discussion des résultats de notre étude sur les souches collectées

Les souches collectées au cours de notre période d'étude sont de 128, nous avons inclus en plus des souches collectées en 2000 et 2001 au nombre de 6 étudiées séparément. Des souches conservées de 2006 (annoncées) n'ont pas pu redémarrer. La collecte des souches est meilleure en 2013, en effet elle passe de 19% de nos souches en 2010 à 30% en 2013 (tableau 8) . Les souches collectées en 2000 et 2001 nous ont surtout permis d'asseoir notre étude de clonalité.

### ✓ Identification

L'identification, a été faite par les techniques usuelles biochimiques faite à l'aide des galeries API 20NE, confirmée par PCR par la mise en évidence de l'oxacillinase naturelle intrinsèque, oxacillinase 51, que seul l'espèce *Acinetobacter baumannii* héberge. La détection de cette dernière constitue un diagnostic de certitude à condition que le laboratoire dispose d'une PCR .

La spectrométrie de masse MALDI-TOF MS serait un idéal car elle permet également une identification précise des bactéries par analyse de leurs protéines totales (protéines ribosomales et protéines associées aux membranes). En effet une étude sur des souches Algériennes **(109)** (étude multicentrique de l'Ouest) 113 au total analysées par spectrométrie de masse identifiées préalablement comme *Acinetobacter baumannii* par les

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

méthodes classiques (API 20NE) a pu les différencier en plusieurs espèces dont 106 étaient des *Acinetobacter baumannii* et 7 *Acinetobacter non-baumannii* (4 *A.pittii*, 2 *A.nosocomialis* et 1 *A. radioresistans*). Cette étude rapporte qu'outre sa rapidité et le coût faible du consommable, le MALDI-TOF MS a montré une grande capacité d'analyse, et une haute reproductibilité.

### ✓ Répartition des souches par secteur de soins et sites de prélèvements

43% de nos souches proviennent des soins intensifs, 26% des urgences, 22% des spécialités chirurgicales, 8% des spécialités médicales et 1% de la pédiatrie (tableau 9). Les services ou les isolats dominant sont respectivement la réanimation médicale, la traumatologie, les urgences chirurgicales, la cardiologie, néphrologie (voir les figures 27, 28, 29 et tableau 10). Ce sont des services où les facteurs de risque sont importants, tels que l'intubation, actes opératoires, activité intense aux urgences de chirurgie, la pose de pace-maker, le cathétérisme en cardiologie, l'hémodialyse, fistule de dialyse et cathéters centraux en néphrologie et l'hémato-oncologie en hématologie. De même les souches de 2001 sont principalement isolées des soins intensifs (voir tableau 41).

### • Sites de prélèvements

Ces souches sont collectées principalement à partir du site respiratoire et ce dans 50% du total des souches, faisant de l'intubation le principal facteur de risque (tableau 11), suivi du site opératoire pour 28% des souches qui fait de l'acte opératoire le deuxième facteur de risque, le site urinaire vient en troisième position pour 7% des souches isolées faisant du sondage vésical le troisième facteur de risque d'infection à *A.baumannii* au CHU de Tizi-ouzou, il en est de même pour les souches de 2001 isolées toutes du site respiratoire (tableau 41).

Très peu de souches sont invasives, deux souches sont isolées à partir du liquide céphalo-rachidien mais sont dues à une inoculation vu qu'elles sont isolées du service de neurochirurgie.

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

Six souches sont isolées d'hémocultures, surtout chez des patients immunodéprimés en héματο-oncologie et des soins intensifs (tableau 12).

La différenciation entre colonisation et infection n'a pas pu être établie, cependant les critères d'inclusion des souches isolées étaient surtout une réponse immunitaire importante, ainsi qu'une numération significative des UFC (unités formant colonies).

- **Sensibilité des souches aux antibiotiques**

### **Etude phénotypique, génotypique, séquençage.**

- **Etude phénotypique**

L'étude de la sensibilité de ces souches a été faite par la technique de diffusion en gélose (ensemencement par écouvillonnage) selon les recommandations du CLSI 2016 et leur mise à jour 2017 et du CA-SFM 2016 (CNR), complétée par les tests complémentaires phénotypiques, et les CMI pour certaines molécules. Notre démarche a été celle du CLSI et du CNR de Besançon.

-L'étude phénotypique réalisée après interprétation des antibiogrammes et des tests complémentaires a permis de détecter :

- ✓ **Pour les  $\beta$ -lactamines** : une pénicillinase, la céphalosporinase AmpC du groupe ADC (par le test à la cloxacilline).

La recherche des BLSE sur l'antibiogramme, par les tests complémentaires (figure 38) (rapprochement des disques), test du double disque et par la suite par PCR ont révélé un fort taux de négatifs qui devient complètement négatif en 2013. Ce qui est en corrélation avec les données de la littérature en effet le taux de BLSE national est de 13,50% en 2014 qui régresse en 2015 à 8,92% **(169)**.

il est à noter que les souches du phénotype 2 BLSE positif ont révélé une image de synergie directement sur l'antibiogramme (voir figure 32).

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

La résistance aux carbapénèmes a été constatée par des diamètres contacts autour des disques d'imipénème et méropénème, avec une mucosité notable ( autour de ces disques) pour les souches ayant présenté le phénotype NDM, confirmée par la synergie observée entre les disques d'imipénème et EDTA+Imipénème (voir figure 24) pour ce phénotype.(figure 36)

Les souches ayant présenté le phénotype oxacillinase 58 ont donné des diamètres interprétés intermédiaires pour les carbapénèmes.(figure 37)

Les souches ayant des oxacillinas 23 ont présenté une petite zone d'inhibition autour des disques d'imipénème et méropénème, alors que le phénotype oxacillinase 24 a donné des diamètres contact.

La plupart des souches ont présenté des mécanismes seuls ou le plus souvent associés.

Le hodge test était positif pour toutes les souches ayant présenté une résistance aux carbapénèmes.

- ✓ Les tests complémentaires phénotypiques ont donc permis :(figure 39)
- de détecter la présence d'une pénicillinase (par la restauration de l'activité de la pipéracilline et ticarcilline, associées respectivement au tazobactam et acide clavulanique sur l'antibiogramme)
- de détecter la céphalosporinase, sur le milieu Mueller Hinton plus cloxacilline.
- de détecter les BLSE, par les différents tests (synergie,rapprochement de disques et test du double disque)
- de mettre en évidence les carbapénémases par le hodge Test.
- de detecter les MBL (Métallo- $\beta$ -lactamases) par le test à l'EDTA ce dernier test a donc permis de distinguer les carbapénémases MBL (NDM1) et les oxacillinas.

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

- ✓ Les CMI par la technique du E-test pour les carbapénèmes, ont donné des valeurs variant de 32 à 64 pour les souches NDM 1, avec une belle synergie observée (voir figure 39), et un rapport 32/1 et 64/1 (CMI imipénème/CMI imipénème+EDTA), cependant les oxacillinases 23 ont donné des CMI variant entre 24 et 64, 24 à 32 pour les oxacillinase 24 et une CMI de 32 pour les oxacillinases 58. (tableau 14).

-Les CMI, réalisées par E-test, pour l'imipénème, et imipénème associée à l'EDTA, distingue clairement les MBL, lesquelles pour la plupart ont donné une image de synergie (figure 40), mais aussi un rapport de la CMI à l'imipénème sur imipénème plus EDTA, largement supérieur à 8, de 24 ou 64, alors que pour les oxacillinases, ce rapport ne dépasse guère la valeur de 8 (tableau 14). Ces CMI ont donc différencié les MBL et les oxacillinases aussi.

La CMI, (évaluée par la technique du E-test) à la colistine a décelée une souche interprétée résistante, avec une CMI, de 6 qui héberge également le mécanisme NDM1, et une souche intermédiaire qui héberge le mécanisme céphalosporinase plus pénicillinase TEM.(Tableau 15), cependant ces CMI n'ont pas pu être confirmées par la technique de référence qui est la CMI en milieu liquide.

Ces deux souches sont isolées des services chirurgicaux, traumatologie et urologie en 2013 et 2012 respectivement.

La CMI à la nétilmicine, a révélé des souches, sensibles, intermédiaires et des souches résistantes. Certaines ont présenté un très haut niveau de résistance ayant pour valeur 256, celles-ci ont donné à l'antibiogramme un diamètre contact autour de tous les aminosides, ce qui oriente d'emblée vers la recherche de la méthylase ArmA, que seule la PCR peut confirmer. Ce mécanisme ArmA est le plus fréquent parmi les méthylases chez *Acinetobacter baumannii*.(voir tableau 16)

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

Tout cela nous a permis de classer nos souches dans 7 phénotypes différents, concernant les  $\beta$ -lactamines, que seuls la PCR, et le séquençage ont pu typer et différencier (tableau 26), pour la plupart des souches plusieurs mécanismes associés ont été retrouvés.

### ➤ Etude génotypique

Les PCR, ont confirmé la présence d'une pénicillinase TEM, chez toutes les souches du phénotype 1, 2, 3 et 5 (tableau 26), de la BLSE CTX-M pour les souches hébergeant une BLSE, et l'absence des autres BLSE et pénicillinase type : SHV, GES, VEB et PER.

Les carbapénèmases sont confirmées du type oxacillinases, et NDM. Les autres MBL n'ont pas été retrouvées (VIM, IMP).

La présence de la séquence d'insertion *Isba1* a été confirmée pour toutes les souches possédant une céphalosporinase AmpC, une oxacillinase 51, 23 et 24 (voir tableau 26).

### ➤ séquençage

Le séquençage de la pénicillinase a donné TEM 128 (**111**), celui de la BLSE CTX-M a donné CTXM15, et a confirmé le génotype NDM1.

### ✓ Aminositides

#### -Etude phénotypique

Pour les Aminositides plusieurs phénotypes ont été constatés, résultants pour la plupart de mécanismes de résistance le plus souvent associés.

la plupart des mécanismes ont été mis en évidence phénotypiquement et confirmés pour certains génotypiquement par PCR.

Ces mécanismes sont les acéthylases : aac3, AAC6'-I, adénylases : aadA, nucleotidyl-transferases : ANT2', phosphorylases : Aph3'VI.

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

la mise en évidence de la méthylase ArmA a pu être confirmée génotypiquement pour toutes les souches suspectées phénotypiquement . En effet celles-ci ont présenté un haut niveau de résistance à tous les aminosides avec un diamètre contact autour des disques antibiotiques et une CMI à la nétilmicine très élevée de 256 .

La sélection des souches hébergeant ce mécanisme qui s'exprime parfois de manière hétérogène, se fait par le test à l'arbekacine, qui est un aminoside synthétique proche de la dibekacine. La poudre d'arbekacine n'est pas disponible en Algérie, car ce test mis au point exclusivement par le CNR de Besançon, n'est pas encore publié, cependant nous avons pu effectuer ce test sur deux souches de 2000 et 2001 au CNR .

La découverte de la méthylase ArmA au niveau mondial a été faite en 2003 **(148)**, les deux souches de 2000 et 2001, de notre collection l'hebergeaient déjà.

### ✓ **Quinolones**

Pour les quinolones les mécanismes ont également été mis en évidence phénotypiquement et génotypiquement par détection de la mutation du gène de la gyrase A et son très haut niveau d'expression ParC par mutation de la topoisomérase IV et ce par la détection des mutations Ser83Leu chez les souches gyrA, et une double mutation Ser83Leu et Ser80Leu (ou Ser84Leu) chez les souches gyrA et parC **(111)**, alors que l'étude du sud-Est Asiatique **(43)** décrit une seule mutation Ser83leu et Ser80leu (Ser :serine leu :leucine). La recherche des mécanismes Qnr A et QnrB, sur toutes les souches s'est avérée négative. Alors que des souches algériennes d'*Acinetobacter baumannii* sont décrites QnrA en 2008 **(240)**.

- ✓ Pour la colistine, antibiotique de réserve fortement utilisé dans notre structure hospitalière chez les souches résistantes aux carbapénèmes, les CMI effectuées ont été corrélées avec les mécanismes de résistance aux carbapénèmes (tableau 14) et ont révélé une

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

sensibilité avec des valeurs basses (98% des souches testées 46/48), seule une souche NDM1 en 2013 a donné une valeur de 6 et donc serait interprétée résistante (après confirmation par la technique de CMI en milieu liquide) résistante à la colistine, cette souche est isolée du service de traumatologie le service chirurgical ou l'on a isolé le plus de souches.

Une souche résistante à la colistine a été décrite en Algérie dans l'Algérois en 2014, celle-ci est associée à une carbapénèmase type oxacillinase 24. Il est à noter que notre souche est de 2013 et qu'elle est associée à la carbapénèmase NDM1. La souche décrite en 2014 avait présenté une mutation au niveau du gène *pmrB* **(116)**, la recherche du gène de notre souche n'a pas été menée.

### ➤ **Analyse de la résistance aux molécules antibiotiques corrélée aux mécanismes de résistance.**

#### • **$\beta$ -lactamines**

L'analyse des résultats par familles sur les 128 souches collectées révèle très peu de souches sensibles aux  $\beta$ -lactamines (2/128) soit 2%. Plusieurs phénotypes, sont observés. Les taux de résistance aux principales molécules utilisées en thérapeutique dépassent les 70% voir les 80%, en effet les taux de résistance à la piperacilline et ticarcilline varient entre 93% et 100% pour les quatre années, alors que la résistance à la ceftazidime est très importante variant de 80% à 100%, pendant que la résistance aux carbapénèmes évolue en augmentant de 2010 à 2013 (tableau 17 et figure 42) en corrélation avec les taux du réseau national AARN en 2014 et 2015 (voir figure 80 ci-dessous) **(169)**.

Ces résistances émanent de plusieurs mécanismes de résistance associés ou non. Les mécanismes non associés sont : la pénicillinase TEM à un taux de 1%, la céphalosporinase AmpC à un taux de 5%, les carbapénèmases type oxacillinase 58 à 3% et NDM1 à 5%.(voir tableau 29)

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

les associations sont :

l'une triple : oxacillinase 23 plus céphalosporinase AmpC plus pénicillinase TEM à un taux 21%.

Deux associations doubles : céphalosporinase plus pénicillinase TEM à un taux de 37% et oxacillinase 24 plus céphalosporinase AmpC à un taux 13% (ces associations sont doubles, triple ou quadruples quand la BLSE CTX-M15 est associée à la céphalosporinase et la pénicillinase ou aux carbapénèmases Oxa 23 et NDM1 à un taux de 7%) ( voirTableau 29).

L'association Céphalosporinase plus pénicillinase TEM est le mécanisme le plus fréquent induisant une résistance à la ceftazidime, cependant les autres mécanismes type carbapénèmases touchent également la piperacilline, la ticarcilline, et la ceftazidime ce qui explique les taux très élevés de résistance de ces molécules, illustrées dans la figure 40.

De manière absolue, en tenant compte des mécanismes seuls non associés à savoir pénicillinase TEM et céphalosporinase (case), il ressort que le mécanisme céphalosporinase domine avec un taux de 85% , suivi de la pénicillinase TEM à 68%, l'Oxa 23 à 21%, BLSE à 14%, Oxa 24 à 13%, NDM1 à 7% et Oxa 58 à 3%. (voir tableau 28 et figure 54)

Nos résultats sont en corrélation avec deux études sur des souches algériennes l'une, au centre et Est (Tizi-ouzou et Setif) (**111**) sur 71 souches, et l'autre multicentrique à l'Ouest sur 113 souches d'*Acinetobacter baumannii* (**109**). La première révèle 75% de souches TEM, et plus de 90% de souches présentant une céphalosporinase, 45% de souches hébergent l'oxacillinase 23 majoritairement à Sétif, alors que la deuxième étude indique 50% de souches hébergeant l'oxacillinase 23, 13% l'oxacillinase 24, 6% de souches sont NDM1 notons cependant l'absence d'oxacillinase 58, l'ordre des mécanismes retrouvé dans notre étude est similaire avec ces études, cependant les taux sont supérieurs aux nôtres. Ce qu'on pourrait expliquer par le présence de souches émanant de trois hôpitaux différents à l'Ouest et par l'ancrage de

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

souches résistantes aux carbapénèmases à l'Ouest et à Setif bien avant celles de notre hôpital **(108)** en 2008.

La pénicillinase TEM 128, a été décrite pour la première, fois en 2004 chez des salmonelles au Danmark **(239)**, il est à noter que la pénicillinase la plus fréquente en Algérie est TEM1 décrite également chez les entérobactéries notamment chez les salmonelles **(185)**. Ce qui témoigne d'un échange certain de matériel génétique entre les salmonelles et l'*Acinetobacter baumannii*.

La superposition des mécanismes tels que la présence de la céphalosporinase du groupe ADC, précédée de la séquence d'insertion *Isba1* en amont du gène AmpC, mais aussi pour certaines souches la présence de BLSE explique le haut niveau de résistance exprimé par la ceftazidime.

Les BLSE, ne sont jamais retrouvées seules, elles sont toujours associées à d'autres mécanismes.(sauf pour les deux souches de l'année 2001)

La séquence d'insertion *Isba1* est retrouvée également en amont des oxacillinases 23 et 24 mais aussi en amont du gène de l'oxacillinase naturelle 51 sans qu'une activité carbapénémase ne soit décelée pour cette dernière.

Toutefois l'induction d'une activité carbapénémase par la séquence *Isba1* sur l'oxacillinase 51 est discutable en effet des souches résistantes à l'imipénème sans mécanisme particulier connu mis en évidence, ont été décrites avec présence de cette séquence d'insertion en amont de l'oxacillinase 51 seulement **(116)**, mais il semblerait que cette activité soit induite par une autre deuxième séquence d'insertion associée à *Isba1*, qui est *Isba9* **(7)**.

L'étude de l'évolution des différents mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines dans notre hôpital montre clairement comment tous les mécanismes se sont installés progressivement. Les souches de 2001 ont révélé soit des phénotypes de sensibilité, soit la présence d'une pénicillinase, soit la présence d'une BLSE ou d'une céphalosporine AmpC associée à la pénicillinase TEM, phénotype le plus prédominant en 2010.

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

En effet l'observation de l'évolution de ce dernier (mécanisme Case AmpC) (tableau 29, figure 56) indique qu'il domine en soins intensifs puis en chirurgie et aux urgences avec respectivement les chiffres de 12% ,11%, 8%. Son évolution montre qu'il tend à diminuer dans ces services pour disparaître complètement en 2013 des soins intensifs au profit certainement d'autres mécanismes notamment les carbapénèmases. Ce qui est confirmé par une diminution significative observée dans la courbe de tendance de la figure 57, il en est de même pour ce mécanisme associé à la BLSE CTXM15. (Voir figure 58).

Un fait important est à noter, la BLSE CTXM15 est présente au CHU déjà en 2000, associée à la méthylase ArmA (Tableau 41), alors que les deux mécanismes ne sont pas encore décrits au niveau mondial.

Les carbapénèmases s'installent avec un taux global 44% (tableau 28), en effet au mécanisme préexistant céphalosporinase plus pénicillinase TEM s'est superposé celui des oxacillinases 23 à un taux dominant de 21%, et au mécanisme céphalosporinase s'est superposé un autre mécanisme, celui des oxacillinases 24 à 13%, sans omettre les phénotypes NDM1, et oxacilline 58 avec respectivement des taux de 7% et 3%. Ces deux derniers phénotypes n'hébergent pas de céphalosporinase.

L'apparition des carbapénèmases débute dans notre hôpital dès 2010 par les oxacillinases 23 aux soins intensifs et aux urgences, pour s'étendre en chirurgie à partir de 2012, et dans les spécialités médicales en 2013 et sévir en soins intensifs les quatre années avec un pic en 2011. (Figure 41, 56, 61 et tableau 32)

Il semblerait que la diffusion des oxacillinases 23 soit une diffusion nationale et mondiale qui s'expliquerait par le support génétique particulier de ce mécanisme qui peut être porté par plusieurs type de transposons, notamment le transposon Tn2006, très mobile **(7)** (figure 4) et d'autres facteurs tels que les gènes associés à cette oxacilline codant pour formation de biofilms, ce

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

qui explique l'implantation de souches oxa 23, dans l'environnement hospitalier source de contamination **(43)**.

Les oxacillinas 24 apparaissent en 2011, aux urgences (2%) et en chirurgie (2%), pour s'étendre à toutes les spécialités en 2013 sauf en pédiatrie avec un pic épidémique en soins intensifs (7%), cependant il est nécessaire d'indiquer la coexistence de tous les mécanismes en 2013 (Figure 55). L'apparition et leur ascension est significative confirmée par la courbe de tendance de la figure 59.

Le phénotype NDM1, apparaît en 2012 en soins intensifs (première souche en réanimation-chirurgicale) et aux urgences de chirurgie, pour par la suite diffuser en chirurgie (seulement en traumatologie) (figure 61) et dans les spécialités médicales ce qui est en corrélation avec les données de la littérature nationale qui décrivent les premiers cas Algériens en 2012 **(109) (132) (133)**.

Le phénotype oxacilline 58, à un faible taux apparaît en 2011 en soins intensifs, pour diffuser par la suite dans toutes les spécialités sauf en pédiatrie.

En comparant nos résultats avec les deux études de l'Ouest (laquelle décrit des souches NDM1, oxacilline 23 et 24), et du centre - Est, il ressort que notre étude regroupe tous les mécanismes décrits dans le monde, alors que les deux études précédentes n'ont pas mis en évidence l'oxacilline 58, la deuxième étude ne décrit pas de souches NDM1, d'oxacilline 58 et l'oxacilline 24 car elle se limite à des souches collectées en 2010 alors que certains mécanismes ne sont apparus qu'après 2010.

Toutes deux rapportent des souches hébergeant des oxacillinas 23.

Notre étude confirme la diffusion épidémique des oxacillinas 23 surtout et 24 dans notre pays et la fréquence faible des carbapénèmases NDM1 et Oxacillinas 58, il est à noter cependant l'absence des oxacillinas 72, qui

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

sont retrouvées de manière épidémique à Sétif et y sont décrites pour la première fois en Algérie **(111)**.

Il semblerait qu'à partir de 2010, toutes les conditions ont été propices à l'implantation d'une flambée épidémique d'*Acinetobacter baumannii* dans notre structure hospitalière et de tous les mécanismes de résistances aux  $\beta$ -lactamines décrits dans le monde.

Sur un total de 128 souches collectées seuls 2% sont sensibles à toutes les  $\beta$ -lactamines testées, et donc les 98% autres sont toutes concernées par une résistance, en effet la ceftazidime touchée par plusieurs mécanismes superposés (céphalosporinase, BLSE et carbapénémases) donne un taux de résistance de 97%, seuls les carbapénèmes demeurent actives elles présentent un taux de résistance de 44%, mais la coexistence de toutes les carbapénémases en 2013, risque de nous mener vers l'impasse thérapeutique sous peu, chose confirmée en 2015 où son taux de résistance globale passe à 68% (202/296) (données personnelles non publiées).

- **Aminosides**

Pour les Aminosides, l'observation des taux de résistance des 128 souches indiquent que les taux globaux concernant la gentamicine et l'Amikacine molécules prescrites et disponibles à l'hôpital sont respectivement 78% et 48% puis 57% pour la tobramycine et 36% pour la nétilmicine (figure 44) ces deux dernières étant des molécules inexistantes en milieu hospitalier mais qui sont touchées par des mécanismes de résistances croisés les impliquant. Ce sont des chiffres proches de ceux du réseau national pour la gentamicine qui sont en 2015 de 77% et différent pour l'amikacine avec un taux 73% **(169)**.

L'observation de l'évolution des résistances durant les quatre années fait ressortir une diminution de la résistance à la gentamicine de 2011 à 2013 le taux passe de 89% à 70%, tendance inverse pour l'amikacine dont les taux de résistance fluctuent et passent de 48% en 2011 à 57% en 2013, alors que les

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

résistances à la tobramycine et nétilmicine fluctuent mais demeurent relativement stables (figure 44). Un fait notable est à signaler c'est le taux global de 20% de souches sensibles à toutes ces molécules (tableau 19) et l'augmentation de leurs taux progressifs qui passe de 3/24 des souches en 2010 à 11/38 en 2013 (tableau 19). Phénomène confirmé par le test du KHI2, qui démontre une récupération de la sensibilité significative (figure 45).

La question est posée, la récupération de la sensibilité aux aminosides serait-elle due à la diminution de prescription de la gentamicine notamment.

Un fait est certain 20% des souches sont sensibles à tous les aminosides, alors que seuls 2% des souches sont sensibles aux  $\beta$ -lactamines.

Ce qui montre clairement que la première intention de prescription dans notre hôpital est la famille des  $\beta$ -lactamines.

L'observation globale des différents phénotypes en corrélation avec les mécanismes génétiques, fait ressortir (tableaux 33 et 34), des souches hébergeant des mécanismes seuls, des souches hébergeant deux mécanismes, des souches hébergeant trois mécanismes, avec dominance de la triple association, en relation avec les souches oxacillinases 24. Celles ci ont évolués en 2013 en mode épidémique en soins intensifs, toutes ces souches hébergeaient cette triple association.

Un fait est à noter c'est le taux des souches hébergeant le mécanisme seul méthylase ArmA qui est de 16%, mais aussi le phénotype sauvage sensible qui domine l'ensemble des mécanismes.

Cependant l'évaluation de chaque mécanisme seul donne par ordre décroissant aadA 59%, aac(3)-Ia :58% APH (3')-VI 31%, ant (2'')-I : 22%, aac (6')-Ib 19% et ArmA 16% (tableau 33) alors qu'une étude algérienne sur des souches du centre et de L'Est (**111**) donne par ordre décroissant aac(3)-Ia (91.1%), aadA (63.4%), (aph(3')-VI (50.7 %), ant(2'')-I (14.1%), aac(6')-Ib (4.2%) sans description de méthylase ArmA l'ordre est presque similaire avec des taux différents ce qui peut s'expliquer par deux

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

épidémiologies différentes car l'étude décrite indique des souches collectées au centre et à Sétif.

Les mécanismes *aadA*, et *aac(3)* semblent être les plus anciens, auxquels se seraient greffés les autres. (Tableau 34)

L'observation de l'évolution de ces mécanismes au cours des quatre années indique leur implantation les quatre années, dans pratiquement toutes les spécialités et leur évolution stable, seuls les mécanismes associés *aac(3)-la+ANT (2'')-I +aadA* et *aac(3)-la+ANT (2'')-I+APH (3')-VI+aadA* diminuent de manière significative confirmé par le test du KHI2 (figures 65 et 66), alors que les mécanismes associés *aac(3)-la+APH(3')-VI+AAC(6')-I+aadA* évoluent en augmentant de manière significative (figure 67), en rapport avec l'évolution épidémique des oxacillinases 24.

- **Les quinolones**

L'observation des taux de résistance, au fil des quatre années indique une augmentation progressive de la résistance à la ciprofloxacine qui passe de 18/24 des souches en 2010 à 38/38 des souches en 2013 (tableau 22).

Il est à noter que les quinolones conservent leur activité dans 12% des cas (sur un total des 128 souches) chez les souches sensibles, en effet celles ci tendent à diminuer elles passent de 6/24 des souches en 2010 à 1/38 en 2013. Les résistances sont régies par deux types de mécanismes émanant des mutations chromosomiques retrouvées en l'occurrence *Gyr A*, et son haut niveau d'expression *GyrA+ParC*. (*Gyr A+ParC* :gyrase A plus sa surexpression *ParC*)

En considérant les mécanismes non associés 88% des souches hébergent le mécanisme *gyrA* seul qui correspond à une mutation *Ser83Leu*, alors que 59% l'hébergent associé (figure 69) *GyrA+ParC* ce qui correspond à une double mutation *Ser83Leu* et *Ser80Leu* (ou *Ser84Leu*).

Ces chiffres se rapprochent des chiffres retrouvés dans l'étude du centre et de l'Est Algérien avec respectivement 94% pour *gyrA* et 69% pour *GyrA+Par(C)*(111).

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

Le résultat est que sur le plan phénotypique 88% des souches sont résistantes à la ciprofloxacine , avec une dominance en soins intensifs à 24% puis aux urgences à 17% et en chirurgie à 13% (tableau 40).

Il n'en demeure pas moins que la ciprofloxacine antibiotique prescrit de manière abusive (du fait de l'existence de sa forme orale) ces dernières années est devenue très peu active au CHU de Tizi-ouzou notamment en 2013, avec ce taux global de résistance de 88%, alors que le chiffre national en 2014 du réseau AARN **(169)** est de 51%. Phénomène confirmé par le test du KHI2, qui montre une perte de sensibilité significative (figure 49) et une augmentation significative de la résistance à la ciprofloxacine (figure 48) .

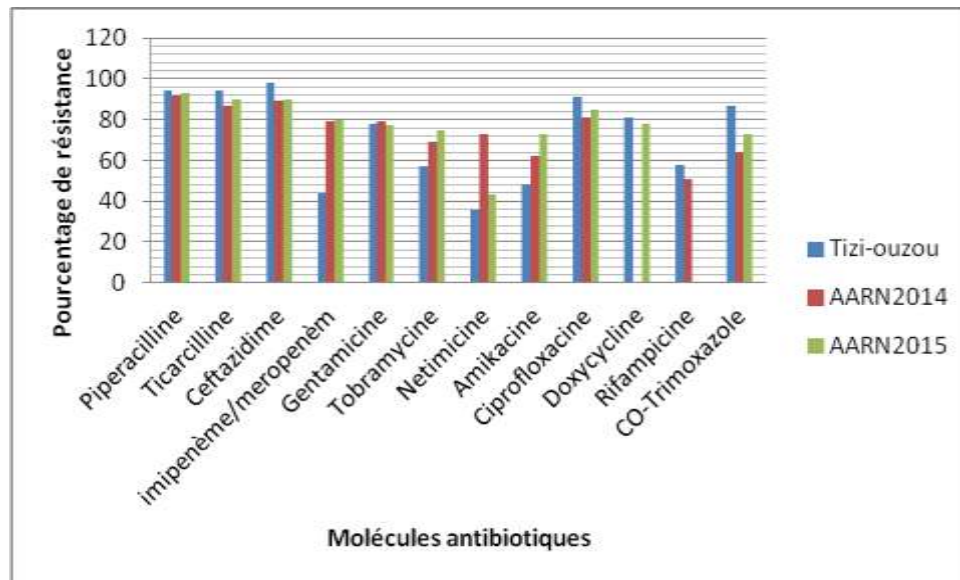
Au total très peu de molécules de ces trois familles étudiées demeurent actives encore sur *Acinetobacter baumannii*, dans notre CHU. La résistance aux autres molécules testées telle que la rifampicine, la doxycycline et le co-trimoxazole avec des taux respectifs de 58%, 81% et 87% (tableau 22bis) indique des taux de résistance élevés, la rifampicine ne peut pas être une alternative vu qu'en Algérie elle est réservée pour le traitement de la tuberculose .

La colistine seule alternative, ne pourra pas porter « ce lourd fardeau » de pouvoir éradiquer cette espèce de notre hôpital , alors que des souches résistantes à la colistine sont déjà signalées en Algérie en 2014 **(116)**. Rappelons que notre étude rapporte une souche NDM1 en 2013, qui serait résistante à la colistine et une deuxième intermédiaire en 2012 (tableau 15). L'impasse thérapeutique est donc à nos portes pour cette espèce.

La comparaison des taux de résistance aux chiffres nationaux du réseau algérien AARN de la surveillance de la résistance aux antibiotiques, de 2014 et 2015 **(169)**, montre que pour les  $\beta$ -lactamines nos taux sont supérieurs pour la piperacilline, ticarcilline et ceftazidime et sont de 98% , 98% et 97% respectivement alors que ceux du réseau sont de 92%, 87% et 89% en 2014, et 93%, 90% et 90% respectivement en 2015. Il est à noter pour l'imipénème

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

un taux inférieur de 44% alors que ceux du réseau sont de 79% et 80% respectivement en 2014 et 2015.



**Figure 79. Taux de résistance aux antibiotiques comparés à ceux du réseau AARN**

Pour les aminosides, à part un taux de résistance à la gentamicine de 78% avoisinant les chiffres du réseau, de 79% et 77% en 2014 et 2015 respectivement, les taux de résistance pour les autres molécules sont en dessous des chiffres nationaux.

En effet pour la tobramycine, netilmicine et amikacine les taux sont de 57%, 36% et 48% respectivement, alors que les taux du réseau sont 69%, 73% et 62% en 2014, et 75%, 43% et 73% en 2015 respectivement.

Pour les quinolones, le taux de résistance à la ciprofloxacine, le chiffre national est de 81% et 85% en 2014 et 2015 respectivement alors qu'il est 88% au CHU de Tizi-ouzou.

Pour les autres molécules nos chiffres sont également au dessus des chiffres nationaux (voir plus haut, figure 80) alors que les chiffres nationaux sont de 51%, 73% et 64% pour la rifampicine, doxycycline et co-trimoxazole respectivement en 2014 et 78% et 73% pour la doxycycline et co-trimoxazole respectivement en 2015.

### ➤ **Génotypage : Etude phylogénique ou étude de clonalité**

L'étude d'un lien génétique entre les souches collectées s'est faite principalement par la technique Gold standard, la PFGE à l'Institut Pasteur d'Alger et par une technique plus simple (la Sequence Base Typing *bla*<sub>oxa51</sub> :SBT *bla*<sub>oxa51</sub>) plus rapide que nous avons découvert en effectuant une comparaison bibliographique des techniques de génotypage. Une troisième technique MLVA , a été partiquée au CNR, pour les souches hébergeant le mécanisme oxacillinase 23.

La technique SBT *bla*<sub>oxa51</sub> que nous avons lancé et instauré à l'Institut Pasteur d'Alger en collaboration avec l'équipe du laboratoire de bactériologie médicale consiste en la recherche des variants de l'oxacillinase naturelle 51 .

En effet la PFGE , technique de référence s'est avéré être une technique longue, (qui nécessite dix jours au moins) et astreignante c'est une technique de plus en plus abandonnée par les laboratoires, comme décrite dans la littérature **(159)**.

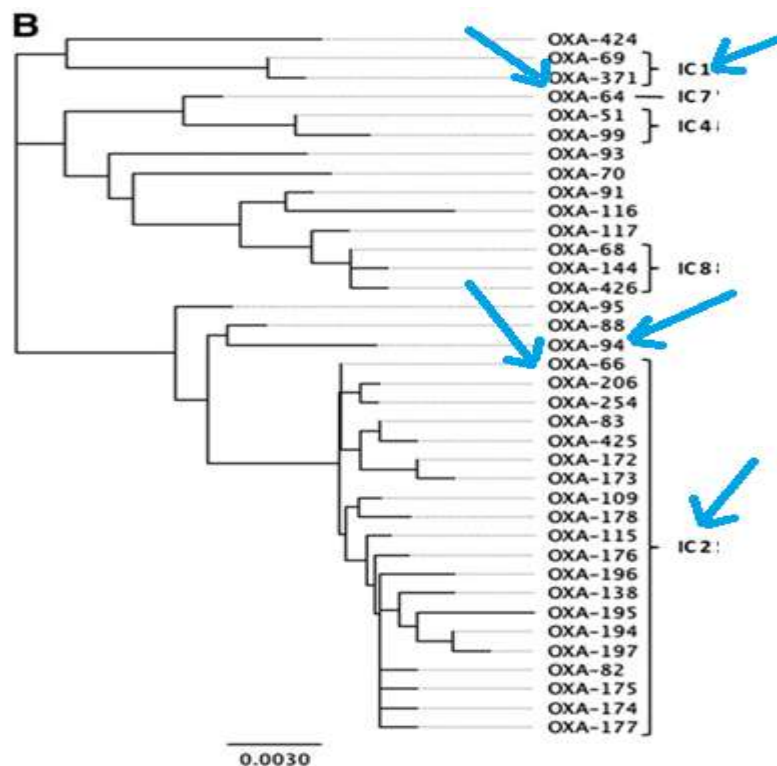
Le choix des souches (au nombre de dix neuf) pour la PFGE, a inclus des souches isolées au cours des quatres années d'étude et deux de 2001 et 2000. Le marqueur principal utilisé pour les différencier a été celui des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines notamment aux carbapénèmes, à partir des services ou les isolats étaient les plus fréquents.

Pour la deuxième technique *bla*<sub>oxa51</sub> séquence base typing que nous avons lancé qu'en fin de parcours, le choix des souches était presque identique à celui de la PFGE, et s'est porté sur douze souches seulement , ce qui nous a suffi à établir les liens de clonalité et de phylogénie entre les souches. (tableau 42)

Les résultats de cette dernière indiquent, la mise en évidence de trois variants de l'oxacillinase 51, oxacillinase 66 chez 7 souches, oxacillinase 371 chez quatre souches, l'oxacillinase 94 chez une souche (voir tableau 42).

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

L'oxacilline 66 domine, ce qui rejoint les données mondiales (43,159), les oxacillines 66 font parti du complexe clonal 1 : CC1 (159), correspondant au clone international 2 (ou complexe clonal 92 en Asie du Sud-Est (43) dont fait partie le clone Européen 2 ST33) (voir le tableau 3), celles-ci sont suivies des oxacillines 371 qui font partie du complexe clonal 2 : CC2 correspondant au clone international 1 dont fait parti le clone Européen 1 ST34 (159)(43). Il est à remarquer que les oxacillines 371 ainsi que les oxacillines 69 font partie d'un complexe clonal proche de l'oxacilline 51.(voir figure ci-dessous) L'oxacilline 371 a été décrite dans l'étude de Kamolvit et al (43 ), et a été retrouvée notamment au Nepal.



**Figure 80. Affiliation des oxa-type 66, 371 et 94 aux clones interantionaux selon kamolvit (43)**

Trois mécanismes distincts, de résistance aux carbapénèmes sont portés par trois clones différents et deux par le même clone à savoir *bla<sub>Oxa58</sub>*, *bla<sub>NDM1</sub>*, pour oxa 371 et oxa 94 respectivement et *bla<sub>OXA23</sub>* et *bla<sub>Oxa24</sub>* pour oxa 66, le gène *bla<sub>AmpC</sub>* est retrouvé dans les trois clones.

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

L'oxacillinase 94 retrouvée chez une souche NDM1, ne fait partie d'aucun complexe clonal, elle est classée comme clone singleton **(43)** (voir figure 80).

Deux références bibliographiques retrouvent ce résultat l'une étant, celle du premier cas décrit en Algérie, à propos d'un transfert sanitaire du CHU d'Oran vers l'hôpital parisien du Kremlin Bicêtre.

La souche Ora1 **(132)**, héberge la carbapénémase NDM1 et les auteurs indiquent que cette souche présente une variante de l'oxacillinase 51 oxa 94, identique à celle retrouvée dans notre étude et affirment que l'origine du gène NDM1, retrouvé la première fois en Inde chez une entérobactérie proviendrait de l'espèce *Acinetobacter baumannii* d'Afrique du Nord .

Une autre étude celle de l'Ouest Algérien décrit des souches NDM1, et affirme que ce sont des souches autochtones alors que l'étude n'a pas été complétée par un génotypage **(109)**.

Une troisième étude, publiée en même temps que la première à propos d'une souche Algérienne, isolée chez un patient transféré de l'hôpital militaire d'Alger (HCA) vers l'hôpital de Bruxelles en Belgique décrit une souche NDM1, typée Oxa 64 **(133)**.

L'oxacillinase 64, fait parti du clone international 7 (figure ci-dessus 80).

Ce qui montre que les souches NDM1, circulantes en Algérie font partie d'au moins deux clones différents.

Une autre étude, libanaise en 2014 rapporte des souches NDM1, ayant une oxacillinase 94 isolée chez des réfugiés syriens au Liban **(194)**, notre souche NDM1 est également typée oxacillinase 94.

Nos souches pourraient avoir la même origine du fait que notre pays a reçu beaucoup de réfugiés syriens en 2011 année ou ces souches ont été isolées (et publiées en 2012). La question demeure posée, les souches supposées

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

autochtones par les deux première études décrivent des souches de l'orianie, autochtones le sont-elles réellement ?

Dans notre problématique nous avons suspecté la diffusion d'un seul clone à partir d'une seule source, les techniques pratiquées lors de notre étude ont fait ressortir : trois clusters pour la PFGE, pour la technique *bla*<sub>oxa 51</sub> sequence base typing trois clones différents sont mis en évidence. (figure 80)

La technique MLVA , indique que les souches hébergeant les oxacillinases 23 à activité carbapénémase présentent une clonalité parfaite. Nos résultats pour les deux premières techniques indiquent qu'au moins trois clones circulent dans notre structure hospitalière, deux sont les clones internationaux 1 et 2 et un troisième singleton (oxa 94).

Il semblerait que les deux clones hébergent des souches qui présentent plusieurs antibiotypes.

La mise en évidence des oxacillinases 371, et 66 sur deux souches de 2001 et 2000 respectivement (voir tableau 42 souches 7981/01,et 3874/00) indique que les deux clones sont présents dans notre hôpital depuis le début de l'implantation de cette espèce dans notre hôpital, en soins intensifs apparament en 2000 et 2001.

La chronologie de l'installation de ces clones, indique que ces derniers persistent jusqu'en 2010, et hébergent les différents mécanismes de résistance nouvellement acquis tel que les carbapénémases, et en premier lieu les oxacillinases 23, qui s'implantent en 2010 (celles-ci oxa-typées 66 et sont incluses dans le clone 2). Ces dernières sont suivies des oxacillinases 58 et 24 en 2011 (pour lesquelles les souches oxa-typés, 371 et 66 intègrent respectivement les clones 1 et 2), et dès 2012, les souches NDM1, apparaissent ( la souche oxa-typée 94, intègre un clone singleton). (figure 77)

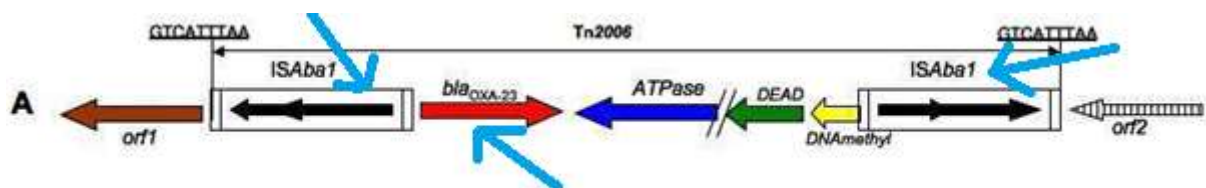
## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Toutes ces carbapénémases, se concentrent en soins intensifs, sauf les NDM1, qui se distinguent en chirurgie , notamment en traumatologie. (figure 78)

Les tests statistiques indiquent que les oxacillinases 23, et 58 évoluent de manière endémique de 2010 à 2013, alors que les oxacillinases 24 et NDM1, ont une évolution épidémique (figure 59 et figure 60).

La domination des oxacillinases 66 qui font partie du clone international 2 n'est pas fortuite, en effet l'étude sur des souches du Sud Est Asiatique et Océanie **(43)** prouve que l'oxacilline 66 est retrouvée chez *Acinetobacter baumannii*, associé au gène d'oxacilline 23 lequel est doté d'une mobilité octroyée par les deux séquences d'insertion implantées en amont et en aval de ce gène .(figure 81 ci-dessous)

Tous ces éléments font que ce mécanisme est le plus répandu, cette étude indique aussi que cette oxacilline 23 est souvent associée au gène de la céphalosporinase AMPc du groupe ADC mais également à des gènes codant pour la formation de biofilms. La majorité de ces souches présentent des séquences type ST2 en MLST**(43)**.



**Figure 81. Transposon Tn2006, hébergeant l'oxacilline 23, précédée en amont et en aval de la séquence d'insertion *Isba1*.**

Tout cela corrobore nos résultats en effet une souche de l'environnement a été isolée aux urgences de chirurgie, celle-ci présente une oxacilline 66 associée à l'oxacilline 23 (voir tableau 44 souche 17/2013).

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

---

Des souches cliniques identiques sont également observées aux urgences de chirurgie et dans l'environnement des urgences résistantes à l'imipénème (voir les résultats de l'enquête d'environnement en annexe 12)

Les souches dominantes de l'étude du Sud-Est asiatique sont toutes des oxacillinases 66, ayant donné en MLST la sequence Type ST2.

Trois études sur des souches Algériennes ont rapporté la présence des ST2 associées à l'oxacillinase 23 , dans l'algérois et rapportent que ce sont des ST dominantes ce qui nous laisse penser qu'il est probable que nos souches soient des ST2 **(134)(116)** . La troisième étude décrit des souches oxacillinase 23 ST2 isolées à partir de poisson pêché au large de Bejaia **(34)** . De même des souches similaires ST2 oxa 66 sont décrites également au Liban en 2016 **(193)**.

La MLST pour nos souches oxa 23 et oxa 66 sera une future étape et perspective afin de confirmer la dissémination réelle et mondiale de ce clone même en Algérie.

La recherche des gènes codant pour des biofilms **(43)** serait également une perspective fort intéressante (à condition que celle-ci passe au stade de routine). La recherche du type de transposon qui porte les oxacillinases 23 compléterait notre travail.

# **CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

---

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

### Conclusion générale

L'espèce *Acinetobacter baumannii* s'est installée dans notre hôpital progressivement, au début des années 2000, au détriment d'un autre germe de l'environnement, qui sévissait sans flambée épidémique particulière *Pseudomonas aeruginosa*.

Notre travail prouve comment les mécanismes de résistance aux familles d'antibiotiques  $\beta$ -lactamines, aminosides et quinolones se sont installés progressivement dans notre hôpital et ont donné en 2013 des taux de résistance très élevés. Ce qui est illustré notamment par la famille des  $\beta$ -lactamines, où progressivement le phénotype sauvage « sensible » a laissé la place aux pénicillinases, BLSE, céphalosporinase et carbapénémases.

Ces dernières ont mis une décennie à apparaître chez nous, sachant que la première utilisation de l'impénème dans notre hôpital a débuté en 2000, *Pseudomonas aeruginosa* avait développé en premier ces résistances en 2003, pour par la suite les maintenir à des taux inférieurs à 20% contrairement à *Acinetobacter baumannii* pour lequel les taux sont supérieurs à 60% en 2015, (données personnelles non publiées).

Son oxacillinase naturelle intrinsèque *bla*<sub>oxa51</sub>, joue un double rôle très important, aussi bien dans l'identification précise de cette espèce, mais aussi dans sa phylogénie et donc de l'étude de sa diffusion dans une structure hospitalière.

La technique de génotypage *bla*<sub>oxa51</sub> sequence base typing, que nous avons lancée à l'IPA, est une technique plus facile de réalisation et d'interprétation que toutes les autres techniques de génotypage, elle comporte deux étapes une PCR suivie d'un séquençage, qui positionne la souche d'emblée (avec les oxa-type obtenues) dans les différents clones décrits mondialement, cette technique peut être complétée et corrélée à la MLST, ce qui est d'ailleurs

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

recommandé au niveau international, car ces deux techniques présentent 100% de corrélations **(159)**.

La MLST , nécessite cependant plus de temps et est bien plus coûteuse. La PFGE, technique choisie pour notre étude, appelée Gold standard est une technique de référence, mais pas une technique de routine, cela du fait de sa lenteur, c'est également une technique astreignante. Elle ne permet pas une comparaison inter-laboratoire, et ne présente pas 100% de corrélation avec les deux techniques citées ci-dessus. La PFGE tend à être abandonnée . Il en est de même pour la MLVA technique pratiquée par le CNR jugée trop longue et astreignante également . Ces deux dernières techniques ne classent les souches dans aucun clone international, elles permettent juste de relier les souches phylogénétiquement dans un même hôpital.

Les BLSE mises en évidence sont de nature CTX-M15 en corrélation avec des études menées en Algérie sur des entérobactéries (salmonelles)**(151)**. Cependant nous décrivons dans notre étude deux souches de 2001, hébergeant une  $\beta$ SE CTX-M15 témoignant d'un échange entre les entérobactéries et *A baumannii* à la même période, alors que le premier cas mondial CTX-M15 pour *Acinetobacter baumannii* est publié en 2011 par Poirel et Al **(83)**. Nos deux souches hébergeaient en même temps le mécanisme ArmA décrit mondialement en 2003 **(148)**. En Algérie des salmonelles CTX-M15, ArmA sont décrites à Constantine en 2009 et 2011 (souches conservées des années 1990 et 2000) **(151)(152)**.

Toutes les carbapénèmases décrites dans le monde pour cette espèce sont retrouvées dans notre étude, avec prédominance des oxacillinase 23, en corrélation avec l'épidémiologie mondiale.

La plupart des souches hébergent l'oxacillinase naturelle oxa 66 qui fait parti du clone international II dominant, lequel est doté d'une plasticité génétique telle, qu'il a une capacité supérieure d'acquisition de tous types de gènes, tel

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

que les gènes codant pour la formation de biofilms lesquels, lui confèrent un pouvoir supérieur à s'implanter et à persister dans l'environnement.

Notre travail corrèle les données de la littérature par la dominance des oxacillines 66, associées aux oxacillinases 23, et à la céphalosporinase AmpC.

L'isolement d'une souche oxa 23 de l'environnement oxa 66 (souche 17/2012 :tableau 45), confirme cette capacité à former des biofilms **(43)**.

Notre travail devra être complété par la recherche de la séquence ST2, par la technique de génotypage MLST de toutes les souches oxa 66, hébergeant une carbapénémase oxa 23, la mise en évidence des gènes codant pour la formation des biofilms cités plus haut, ainsi que le transposon support génétique serait un idéal.

Tous ces éléments prouvent, la plasticité génétique dont fait preuve cette espèce, notamment les souches hébergeant le gène de l'oxacillinase naturelle *bla<sub>oxa66</sub>* (dérivé du gène *bla<sub>oxa51</sub>*), réceptives à l'acquisition de tous types de gènes. *Acinetobacter baumannii* est un réservoir de gènes.

Le mécanisme NDM1 est d'implantation récente qui s'est fait en même temps que les premiers cas décrits en Algérie et pourrait être en rapport avec l'installation de réfugiés syriens en Algérie .

Trois clones circulent dans notre hôpital, toutefois la présence de plus de clones n'est pas à exclure vu que toutes les souches n'ont pas été génotypées, cependant nous avons vérifié par notre étude qu'il y avait plus d'un clone circulant au CHU.

La dissémination d'*Acinetobacter baumannii* dans notre hôpital semble avoir été exacerbée par les travaux de réaménagement en 2005. L'activité efficace du CLIN ces années là semblent avoir freiné sa dissémination ainsi que l'évolution de sa résistance entre 2005 et 2010.

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

Le relâchement, le manque d'obseance des recommandations du CLIN , à partir de 2010 semblent avoir favorisé l'expression de tous les mécanismes de résistance.

Deux services semblent effectivement entretenir cette épidémie, la réanimation médicale et les urgences chirurgicales. Chose confirmée par l'enquête microbiologique d'environnement en 2016 (voir annexe 12) ou *Acinetobacter baumannii* est présent encore dans l'environnement (en force) des urgences de chirurgie et de surcroît résistant à l'imipénème. La source de contamination ne semble pas se tarir.

Les deux services : chirurgie traumatologique et neurochirurgie sont les services les plus concernés par tous les mécanismes du fait que ces deux spécialités partagent la même salle opératoire aux urgences de chirurgie lors du traitement chirurgical des polytraumatisés.

En 2013, tous les services sont touchés par cette épidémie, ce qui prouve le relâchement constaté dans cette lutte contre les Infections nosocomiales dans notre structure hospitalière.

**Nos Recommandations lesquelles sont déjà mises en place** dans notre hôpital depuis plus d'une décennie devront être relancées celles-ci sont :

**-Un fonctionnement correct du CLIN** , où les acteurs principaux que sont le clinicien, l'épidémiologiste, le microbiologiste et le pharmacien devront travailler en étroite collaboration.

Le microbiologiste en concertation avec le clinicien devront informer et alerter le CLIN et l'épidémiologiste à propos de la diffusion de cette bactérie à l'hôpital, le pharmacien devra fournir tous les moyens (antibiotiques, antiseptiques et produits de stérilisation) pour éradiquer cette bactérie de l'environnement hospitalier surtout, ainsi que tous les moyens de prévention (Solution Hydro-Alcoolique, blouses, surblouses à usage unique, masques, lunettes, gants.....).

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

L'épidémiologiste devra investiguer, et circonscrire la diffusion de cette souche.

Le Clin devra :

- rédiger des recommandations quant aux protocoles de soins , afin d'éviter les erreurs à l'origine des contaminations croisées, tel que les protocoles sur l'hygiène des mains, lavage des mains , utilisation de la solution hydro-alcoolique, la réalisation du ménage à l'Hôpital, du bionettoyage, stérilisation des dispositifs médicaux, et salles , intubation, sondage urinaire etc.....
- former et informer le personnel hospitalier toutes catégories confondues, en continu sans relâchement, et ce à travers des journées scientifiques et autres.
- élaborer des affiches et revues dédiées à l'hygiène hospitalière , et au respect de ses bonnes pratiques.
- évaluer la mise en place des recommandations, par des audits des pratiques, enquêtes d'incidence et de prévalence.

-Un fonctionnement du comité médicament plus précisément le sous comité antibiotiques doit être effectif ou tous les prescripteurs, microbiologistes, épidémiologistes et pharmaciens devront discuter et confronter les taux de résistance à la prescription, et consommation des antibiotiques, et ce à travers des réunions régulières ou des référents par service doivent être désignés.

-un Bionettoyage suivi d'une désinfection terminale , doit être hebdomadaire en soins intensifs, et aux urgences de chirurgie de notre hôpital . L'utilisation du peroxyde d'hydrogène semble être très prometteur, il pourrait être limité par son coût excessif à ces deux services seulement. (voir enquête d'environnement en annexe 12)

-L'éradication de cette bactérie doit se faire aussi par l'application des précautions standards, précautions complémentaires de type septiques et

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

aseptiques autour des cas infectés de manière stricte afin de casser sa chaîne de transmission. Mais aussi par un dépistage des sujets contacts et un contrôle de l'environnement immédiat des patients infectés, qui se fera par des prélèvements réguliers jusqu'à disparition totale de cette bactérie, après bionettoyage et stérilisation terminale.

Seules ces bonnes pratiques en hygiène hospitalière pourraient arriver à bout de cette bactérie à l'hôpital, et ce par l'adhésion de tous, car les antibiotiques semblent avoir prouvé leurs limites.

Les alternatives thérapeutiques proposées que sont les antibiotiques nouveaux, ou associés semblent pour la plupart être au stade d'études expérimentales, et inefficaces le plus souvent *in vivo*.**(227)(228)(229)(230).**

La phagothérapie alternative possible ne fait pas encore le consensus au niveau mondial, du fait de la non maîtrise des effets nocifs chez l'humain, des phages.

La transplantation fécale qui rejoint le principe des pro-biotiques peut devenir une alternative viable, alors que la vaccination semble buter sur le choix d'antigènes réellement immunogènes.

Tout semble être à l'état d'essais, en attendant seule l'observance des bonnes pratiques en hygiène hospitalière constitue la solution qui arriverait à bout de cette bactérie, mais seulement si le bactériologiste est doté de moyens nécessaires lui permettant d'identifier rapidement cette bactérie (chez le patient, et à partir de l'environnement), ainsi que de ses mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Ces moyens représentés notamment par la spectrométrie de masse, et les tests rapides.

S'il est vrai que l'antibiotypie et les tests complémentaires peuvent distinguer les mécanismes de résistance jusqu'à un certain seuil, l'épidémiologie de la résistance de cette espèce aux antibiotiques en constante évolution requiert

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

les techniques de biologie moléculaire pour les distinguer tel que la PCR ,qui doit un être un outil de routine dans nos laboratoires.

Aussi seule la pratique de la biologie moléculaire PCR et séquençage outils des techniques de génotypage, MLST et *bla*<sub>oxa51</sub> Sequence base Typing pourront asseoir une étude épidémiologique réelle de la diffusion de cette bactérie dans notre hôpital.

Tous ces éléments entraîneraient une célérité dans la prise en charge, du patient et la mise en place de tous les moyens de prévention pour éviter la diffusion de cette bactérie à l'hôpital.

Le but étant de localiser les sources de contamination, afin de les circonscrire et casser la chaîne de transmission d'*Acinetobacter baumannii* à l'hôpital.

# Bibliographie

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1-Belguesmia.Y, Hamouche .M, Houali ; Azzam.A ; 2002 Etude de l'implication de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter sp* dans les infections hospitalières au niveau du CHU de Tizi-Ouzou et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques Mémoire de fin d'étude de DES en microbiologie page 36 à 42 faculté de biologie UMMTO.
- 2-Nosothème, numéro 4, 2008 *Acinetobacter baumannii*.
- 3-X-Bertrand. 2008 Evolution de la résistance chez les Bacilles Gram Négatifs non fermentant RICAI 2008 28eme réunion interdisciplinaire de la chimiothérapie anti-infectieuse Paris France page 98 ref : 117/26
- 4- C-CLIN Paris –Nord Octobre 2003 Epidémie d'infections et colonisations à *Acinetobacter baumannii* BLSE région Pas de Calais recommandations.
- 5-L .Coussa-Riviere A .Doleans-Jordheim,M .R .Mallaret,J .Feney C.Jacquot ,J .Croize 2008 :caractérisation d'une épidémie à *Acinetobacter baumannii* multi résistant survenu au CHU de Grenoble par deux techniques de typage moléculaire :Electrophorèse en champ pulsé et répétitives séquence based-PCR(rep-PCR semi automatisé) 332 /65A 28ème RICAI DECEMBRE
- 6-Bouvet PJ, Grimont PA. 1987. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. Ann. Inst. Pasteur. Microbiol; 138 569-78.
- 7-Samy Figueiredo. *Acinetobacter sp* et réservoir de gènes de carbapénèmases. Human health and pathology. 2011 Université Paris Sud - Paris XI.
- 8- Nemec L. Dijkshoorn I. Cleenwerck T. De Baere, D. Janssens, T. J. Van Der Reijden, P. Jezek, and M. Vaneechoutte. 2003 *Acinetobacter parvus* sp. nov., a smallcolony- forming species isolated from human clinical specimens, int. j. syst. Evol. Microbial. 53 1563-7.
- 9-Carr, E. L., P. Kampfer, B. K. Patel, V. Gurtler, and R. J. 2003.Seviour. seven novel species of *acinetobacter* isolated from activated sludge. Int. j .syst evol. Microbial. 53 953-63.
- 10-Kilic, A., H. Li, A. Mellmann, A. C. Basustaoglu, M. Kul, Z. Sensés, H. Aydogan, C. W. Stratton, D. Harmsen, and Y. W. Tang. 2008 *Acinetobacter septicus* sp. nov. association with a nosocomial outbreak of bacteremia in a neonatal intensive care unit, j. clin. Microbial. 46:902-8.
- 11-Nemec, A., M. Musilek, M. Maixnerova, T. De Baere, T. J. Van Der Reijden, M. Vaneechoutte, and L. Dijkshoorn.2009 *Acinetobacter beijerinckii* sp. nov. and *Acinetobacter gyllenbergii* sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans. Int. j. syst. Evol. microbiol .59 118-24. 185. nishimura.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 12-Kang, Y. S., J. Jung, C. O. Jeon, and W. Park. 2011 *Acinetobacter oleivorans* sp. nov. is capable of adhering to and growing on diesel-oil. J. microbial. 49 29-34.
- 13-Vaz-Moreira, I., A. Novo, E. Hantsis-Zacharov, A. R. Lopes, M. Gomila, O. C. Nunes, C. M. Manaia, and M. Halpern. 2011. *Acinetobacter rudis* sp. nov. isolated from raw milk and raw wastewater. Int. j. syst. Evol. microbiol.
- 14-Lee, H. J., and S. S. Lee. 2010 *Acinetobacter kyonggiensis* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium, isolated from sewage treatment plant, j. microbial . 48 754-9.
- 15-Anandham, R., H. Y. Weon, S. J. Kim, Y. S. Kim, B. Y. Kim, And S. W. Kwon 2010 *Acinetobacter brisouii* sp. nov., isolated from a wetland in korea. j microbial . 48 36-9.
- 16-Vaneechoutte, M., A. Nemec, M. Musilek, T. J. Van Der Reijden, M. Van Den Barselaar, I. Tjernberg, W. Calame, R. Fani, T. De Baere, and L. Dijkshoorn 2009. Description of *Acinetobacter venetianus* ex di cello et al. sp. nov. int.j .syst. evol .microbiol. 59 1376-81.
- 17-Lee, J. S., K. C. Lee, K. K. Kim, I. C. Hwang, C. Jang, N. G. Kim, W. H. Yeo, B. S. Kim, Y. M. Yu, and J. S. Ahn. 2009 *Acinetobacter antiviralis* sp. nov., from tobacco plant roots, j. microbial. Biotechnol. 19 250-6.
- 18-Kim, D., K. S. Baik, M. S. Kim, S. C. Park, S. S. Kim, M. S. Rhee, Y. S. Kwak, And C. N. Seong. 2009 *Acinetobacter soli* sp. nov., isolated from forest soil. j. microbial. 46 396-401.
- 19-Yoon, J. H., I. G. Kim, And T. K. Oh. 2007. *Acinetobacter Marinus* Sp. Nov. and *Acinetobacter seohaensis* sp. nov., isolated from sea water of the yellow sea in korea. J. microbial. biotechnol 17 1743-50.
- 20-Nemec, A., L. Krizova, M. Maixnerova, T. J. Van Der Reijden, P. Deschaght, V. Passet, M. Vaneechoutte, S. Brisse, And L. Dijkshoorn. 2011. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with thé proposai of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13ru). Res microbial. 162 393-404.
- 21-Tjernberg I, Ursing J. 1989 Clinical Strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. apmis; 97 595-605.
- 22-Hidri Nadia. Avril .2010 Identification d'*Acinetobacter* sp au laboratoire EM consulte édition ELSEVIER Vol 42 .n° 441 -page 38 .

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 23-Baumann p., Doudoroff M, and Stanier. R.Y. 1986 a study of the morexella group.ii. oxydative-negative species (genus *Acinetobacter*).j.bacteriol.95 1520-1541.
- 24-Jawad A, Hawkey PM, Héritage J, et al.1994 Description of Leeds *Acinetobacter* Médium, a new sélective and differential médium for isolation of clinically important *Acinetobacter* sp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. J .Clin .Microbiol.32 2353-8.
- 25-Joly- Guillo M, L, E. Bergogne-Berezin, and J. F. Vieu.1991 Epidemiology of *Acinetobacter* strains isolated from nosocomial infections in France; J-Hospit -inf Vol.57.
- 26-Bonting C.F.C.,B.M.F. Willemsen, W .Akkermans.Vanvliet,P.J.M. Bouvet, G. J. J. Kortstee, Anda.J.B. Zehnder,1992 additional characteristics of the polyphosphate- accumulating *Acinetobacter* strain 210a and its identification as *Acinetobacter johnsonii*. Fems. Microbiology. ecology .102 57-64.
- 27-Nishimura Y., M. Kano, T.Ino , H.Iizuka, Y.Kosako, and T.Kaneko 1987 deoxyribonucleic acid relationship among the radioresistant *Acinetobacter* and other *Acinetobacter* j.gen.applmicrobiol.33 371-376 .
- 28-Wend C., B. Dietze, E. Dietz, And H. Ruden.1997 Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces, j. clin. microbiol. 35 1394-1397.
- 29-Berlau, J., H. Aucken, H. Malnick, And T. Pitt.1999 Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. eur. j. clin, microbiol. infect, dis. 18:179-183.
- 30-Dijkshoorn, L., E. Van Aken, L. Shunburne, T. J. Van Der Reijden, A. T. Bernards, A. Nemec, And K. J. Towner.2005. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. Clin. Microbial. infect 11 329-32.
- 31-Seifert, H., L. Dijkshoorn, P. Gerner-Smidt, N. Pelzer, I. Tjernberg, And M. Vaneechoutte.1997. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. J.clin microbial. 35 2819-25.
- 32-La Scola B, Raoult 2004. *Acinetobacter baumannii* in human body louse. emerg infect .dis 10 (9) 1671-3.
- 33-Peleg, A. Y., H. Seifert, and D. L. Paterson. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. clin .microbiol. rev 21:538-82.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 34- Brahmi Soumia , Touati Abdelaziz , Cadière Axelle , Djahmi Nassima, Pantel Alix, Sotto Albert, Lavigne Jean-Philippe, Donyach-Remy Catherine 2016 Ap .First Description of Two Sequence Type 2 *Acinetobacter baumannii* Isolates Carrying OXA-23 Carbapenemase in *Pagellus acarne* Fished from the Mediterranean Sea near Bejaia, Algeria.Antimicrob. Agents. Chemother. 60(4) 2513–2515.
- 35-Joly-Guillou Marie-Laure, 2004. *Acinetobacter* EM Consulte édition ELSEVIER
- 36-Zeana C, Larson E, Sahni J, Et Al. 2003. The epidemiology of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: does the community represent a reservoir, infection control and hospital epidemiology; 24 (4): 275-9.
- 37-Russo Ta, Luke Nr, Beanan Jm, et Al.2010 The KI Capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. Infect. immun 78 3993-4000.
- 38-Jyssum & Joner.1974 Régulation of the nitrogen assimilation from nitrate and nitrite in *Bacterium anitratum* (b5).acta. path. microbiol. scand .64:387-397. riley & weaver.
- 39-Obana, Y.1986 Pathogenic significance of *Acinetobacter calcoaceticus*: analysis of expérimental infection in mice. Microbiol. immunol 30:645-57.
- 40-Choi, C. H., E. Y. Lee, Y. C. Lee, T. I. Park, H. J. Kim, S. H. Hyun, S. A. Kim, S. K. Lee, nd J. C. Lee.2005. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to thé mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. Cell. Microbiol. 7 1127-38.
- 41-Grotiuz, G., A. Sirok, P. Gadea, G. Varela, and F. Schelotto. 2006 Shiga toxin 2-producing *Acinetobacter haemolyticus* associated with a case of bloody diarrhea. J. Clin. Microbiol. 44 3838-41.
- 42-Bergogne-Berezin, E., H. Fiedman, and M. Bendinelli. 2008 *Acinetobacter* biology and pathogenesis. in Springer (éd.), infectious agents and pathogenesis.
- 43- Kamolvit Witchuda Molecular Epidemiology and Insights into the Genomes of *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* complex 2015.A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy at The University of Queensland in 2015.
- 44-Marti, S., J. Rodriguez-Bano, M. Catel-Ferreira, T. Jouenne, J. Vila, H. Seifert, and E. De 2011. Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter* species. BMC Research Notes 4 5  
<https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-5>

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 45-Doughari, H. J., P. A. Ndakidemi, I. S. Human, and S. Benade. 2011. The Ecology, Biology and Pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: An Overview. *Microbes Environ* 26 101-12.
- 46-Fagon JY, Chastre J, Domart Y, Trouillet JL, Gibert C. 1996 Mortality due to ventilator-associated pneumonia or colonization with *Pseudomonas* ou *Acinetobacter* species; assessment by quantitative culture of samples obtained by a protected specimen brush. *Clin. Infect. Dis* 23 538-542.
- 47-Tiwana H, Wilson C, Pirt J, Cartmell W, Ebringer A. 1996 Autoantibodies to brain components and antibodies to *Acinetobacter calcoaceticus* are present in bovine spongiform encephalopathy. *Infect. Immun*; 67 6591-6595.
- 48-Nîmes J.P. Lavigne. 2007. Faculté de médecine Montpellier bactériologie b6 — antibiotiques et résistance.
- 49-Piffarreti JC. 2001-2002. Microbiologie médicale, cours de l'université de Genève, faculté de médecine, département de génétique et de microbiologie. <http://www.unige.ch/sciences/biologie/public/pif>
- 50-Tulkens P. Spinewine A. 2002. Pharmacologie spéciale-les aminoglycosides. pharmacologie et pharmacothérapie des anti-infectieux. Université catholique de Louvain.
- 51-Eric Scholar. 2008 The comprehensive pharmacology. Repère médical. 48 1-4.
- 52-Françoise Van Bambeke, Dr Se. Pharm. Paul Tulkens, Dr. méd. 2007-2008 pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse 1. antibiotiques 2. Bruxelles.
- 53-Kipnis E., Guery B.-P. 2010, Réévaluation de la colistine Article in Antibiotiques 12(4):205-227 · collection pharma, Elsevier, Paris.
- 54-Frasca D., C. Dahyot-Fizelier, O. Mimoz, 2008. La colistine en réanimation Colistin in the intensive care unit. *Réanimation* 17 ; 251-258.
- 55-Turkoglu M, Dizbay M, Ciftçi A, Aksakal FN, Aygencel G. Colistin therapy in critically ill patients with chronic renal failure and its effect on development of renal dysfunction. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2012 Feb;39(2) 142-5.
- 56-Ganapathy H, Pal SK, Teare L, Dziewulski P., 2010. Use of colistin in treating multi-resistant Gram-negative organisms in a specialised burns unit. *Burns*. 2010 Jun;36(4):522-7.

## BIBLIOGRAPHIE

---

57-Euzeby. 2009. Abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de l'école nationale vétérinaire de Toulouse disponible sur le site : <http://bactériologie.Net>.

58-Gaudy Catherine ; Buxeraud Jacques. 2005. Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique collection pharma, Elsevier, Paris .255 pages .

59- Mammeri Hedi. 2007-2008 Mécanismes de résistance aux antibiotiques Du d'antibiothérapie université de Picardie Jules Verne.

60- Joly-Guillou, M. L. 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin. Microbiol.Infect 11:868-73.

61-Bou G, Martinez-Beltran J. 2000. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC -lactamase *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents. Chemother ;44 428-32.

62-Héritier C, Poirel L, Fournier E, et al. 2005.Characterization of a naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents. Chemother. 49 4174-9.

63-Sato K, Nakae T. 1991. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic résistance. Antimicrob. Chemother .28 35-45.

64-Damier-Piolle L, Magnet S, Bremont S, et al. 2008 AdelJK, a resistance-nodulation-cell division pump exffluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob .Agents .Chemother .52 557-62.

65-Ambler, R. P.,1980. "The structure of beta-lactamases." Philos Trans R Soc. Lond. B. Biol. Sci .289(1036) 321-31.

66-Goldstein, F. W., A. Labigne-Roussel, G. Gerbaud, C. Carlier, E. Collatz, and P. Courvalin., 1983. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter*. Plasmid 10:138-47.

67-Devaud, M., F. H. Kayser, and B. Bachi., 1982. Transposon-mediated multiple antibiotic resistance in *Acinetobacter* strains. Antimicrob .Agents Chemother. 22 323-9.

68-Dijkshoorn, L., Nemec, A., and Seifert, H., 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nat. Rev. Microbiol. 5, 939–95.

69-G, Pellegrini C, Caccamo M, Segatore B, Amicosante G, Perilli M., 2006. Spread of blaCTX-M-type and blaPER-2  $\beta$ -lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals. J. Antimicrob. Chemother, 57(5) 975-978.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 70-Gordon NC, Wareham DW, 2010. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. Int .J. Antimicrob. Agents, 35 3 219-226.
- 71-Poirel, Nordmann, 2006. Résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. Antibiotiques, 8 : 1-9.
- 72-Ribera A, Fernandez-Cuenca F, Beceiro A, Bou G, Martinez-Martinez L, Pascual A, Cisneros JM, Rodriguez-Bano J, Pachon J, Vila J., 2004. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance to quinolones and  $\beta$ -lactams in *Acinetobacter* *genospecies* 3. Antimicrob .Agents. Chemother, 48 4 1430-1432.
- 73-Beceiro A, Perez-Llarena FJ, Perez A, Tomas Mdel M, Fernandez A, Mallo S, Villanueva R, Bou G., 2007. Molecular characterization of the gene encoding a new *AmpC*  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baylyi*. J. Antimicrob Chemother, 59(5) 996-1000.
- 74-Jacoby GA., 2009. AmpC  $\beta$ -lactamases. Clin. Microbiol. Rev., 22(1) 161-182, Table of Contents.
- 75-Héritier C, Poirel L, Nordmann P. 2006. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of *ISAbal1* in *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol. Infect ; 2 123-30.
- 76-Poirel, L., O. Menuteau, N. Agoli, C. Cattoen, and P. Nordmann., 2003. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. J. Clin .Microbiol 41 3542-7.
- 77-Vahaboglu, H., R. Ozturk, G. Aygun, F. Coskunkan, A. Yaman, A. Kaygusuz, H. Leblebicioglu, I. Balik, K. Aydin, and M. Otkun., 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.
- 78-Huang, Z. M., P. H. Mao, Y. Chen, L. Wu, and J. Wu. 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.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 79-Naas T, F. Namdari, H. Reglier-Poupet, C. Poyart, and P. Nordmann., 2007. Panresistant extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing *Acinetobacter baumannii* from New York City. J. Antimicrob. Chemother 60 1174-6.
- 80-Endimiani, A., F. Luzzaro, R. Migliavacca, E. Mantengoli, A. M. Hujer, K. M. Hujer, L. Pagani, R. A. Bonomo, G. M. Rossolini, A. Toniolo., 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.
- 81-Nagano, N., Y. Nagano, C. Cordevant, N. Shibata, and Y. Arakawa., 2004. Nosocomial transmission of CTX-M-2 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. J. Clin. Microbiol 42 3978-84.
- 82-Bonnin, R. A., P. Nordmann, A. Potron, H. Lecuyer, J. R. Zahar, L. Poirel., 2011. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents. Chemother .55 349-54.
- 83-Poirel, L., A. Potron, S. Munoz-Price, T. Cleary, P. Nordmann., 2011. Genetics of Acquisition of the CTX-M-15 Encoding Gene in *Acinetobacter baumannii* Isolates. Antimicrob. Agents. Chemother. 55 12 5946–5948
- 84-Shakil, S., and A. U. Khan., 2010. Detection of CTX-M-15-producing and carbapenemresistant *Acinetobacter baumannii* strains from urine from an Indian. hospital. J. Chemother 22 324-7.
- 85-Poirel L, Naas T, Nordmann P, 2010. Diversity, epidemiology, and genetics of class D  $\beta$ -lactamases. Antimicrob .Agents. Chemother, 54 1 24-38.
- 86-Donald, H. M., W. Scaife, S. G. Amyes, and H. K. Young., 2000. Sequence analysis of ARI1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. Antimicrob. Agents Chemother. 44 196-9.
- 87-Brown, S., H. K. Young, S. G. B Amyes., 2005. Characterisation of OXA-51 a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. Clin. Microbiol. Infect. 11 15-23.
- 88-Poirel, L., and P. Nordmann., 2008. *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms of resistance, multiple  $\beta$ -Lactamases. Infectious agents and pathogenesis pp 129-143
- 89-Zander E, Bonnin RA, Seifert H, Higgins PG 2014 May  
Characterization of *bla*OXA143 variants in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter pittii*. Antimicrob. Agents .Chemother. 58 5 2704-8.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 90-Higgins PG, Pérez-Llarena FJ, Zander E, Fernández A, Bou G, Seifert H OXA-235, 2013 May. A novel class D  $\beta$ -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. ;57(5):2121-6
- 91-Paton, R., R. S. Miles, J. Hood, and S. G. B. Amyes., 1993. ARI-1:  $\beta$ -lactamase mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob .Agents. 2: 81–88
- 92-Donald, H. M., W. Scaife, S. G. Amyes, and H. K. Young., 2000. Sequence analysis of ARI1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. Antimicrob. Agents Chemother 44 196-9.
- 93-Afzal-Shah, M., Woodford N., Livermore D., 2001. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D  $\beta$  -lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents .Chemother. 45 583–588.
- 94-Bonnet, R., H. Marchandin, C. Chanal, D. Sirot, R. Labia, C. De Champs, E. Jumas Bilak, J. Sirot., 2002. Chromosome-encoded class D beta-lactamase OXA-23 in *Proteus mirabilis*. Antimicrob. Agents .Chemother. 46 2004-2006.
- 95- Bou G, Martinez-Beltran J, 2000. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an *AmpC* B-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob .Agents .Chemother ;44 428-32.
- 96-Héritier, C., L. Poirel, D. Aubert, and P. Nordmann. 2003. Genetic and functional analysis of the chromosome-encoded carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-40 of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. 47 268-273.
- 97-Tian, G. B., J. M. Adams-Haduch, T. Bogdanovich, A. W. Pasculle, J. P. Quinn, H. N. Wang, and Y. Doi., 2011. Identification of diverse OXA-40 group carbapenemases, including a novel variant, OXA-160, from *Acinetobacter baumannii* in Pennsylvania. Antimicrob. Agents. Chemother. 55 429-432
- 98-Quinteira, S., F. Grosso, H. Ramos, and L. Peixe.? 2007. Molecular epidemiology of imipenem-resistant *Acinetobacter haemolyticus* and *Acinetobacter baumannii* isolates carrying plasmid-mediated OXA-40 from a Portuguese hospital. Antimicrob. Agents .Chemother. 51 3465-3466.
- 99-Sevillano, E., L. Gallego, and J. M. García-Lobo., 2009. First detection of the OXA-40 carbapenemase in *P. aeruginosa* isolates, located on a plasmid also found in *A. baumannii*. Pathol. Biol. (Paris). 57 493-495.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 100-Ruiz, M., S. Marti, F. Fernandez-Cuenca, A. Pascual, J. Vila., 2007. High prevalence of carbapenem-hydrolysing oxacillinases in epidemiologically related and unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Spain. Clin Microbiol .Infect 13 1192-8
- 101-Yan, Z. Q., D. X. Shen, J. R. Cao, R. Chen, X. Wei, L. P. Liu, and X. L. Xu. 2010. Susceptibility patterns and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains from three military hospitals in China. Int. J. Antimicrob. Agents 35 269-73.
- 102-Da Silva, G. J., S. Quinteira, E. Bértolo, J. C. Sousa, L. Gallego, A. Duarte, L. Peixe, and Portuguese Resistance Study Group., 2004. Long-term dissemination of an OXA40 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clone in the Iberian Peninsula. J .Antimicrob. Chemother. 54 255-258
- 103-Wang, H., P. Guo, H. Sun, H. Wang, Q. Yang, M. Chen, Y. Xu, and Y. Zhu., 2007. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. Antimicrob. Agents Chemother 51 4022–4028.
- 104-Lee, K., M. N. Kim, T. Y. Choi, S. E. Cho, S. Lee, D. H. Whang, D. Yong, Y. Chong, N. Woodford, D. M. Livermore, the KONSAR Group., 2009b. Wide dissemination of OXA-type carbapenemases in clinical *Acinetobacter* spp. Isolates from South Korea. Int .J. Antimicrob. Agents. 33 520–524
- 105- Libisch, B., C. G. Giske, B. Kovacs, T. G. Toth, and M. Fuzi. 2008. Identification of the first VIM metallo-beta-lactamase-producing multiresistant *Aeromonas hydrophila* strain. J.Clin. Microbiol 46 1878-80.
- 106-Feizabadi, M. M., B. Fathollahzadeh, M. Taherikalani, M. Rasoolinejad, N. Sadeghifard, M. Aligholi, S. Soroush, and S. Mohammadi-Yegane. 2008. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among *Acinetobacter* spp. Isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn. J Infect .Dis 61 274-8
- 107-Tian, G. B., J. M. Adams-Haduch, T. Bogdanovich, A. W. Pasculle, J. P. Quinn, H. N. Wang, and Y. Doi., 2011. Identification of diverse OXA-40 group carbapenemases, including a novel variant, OXA-160, from *Acinetobacter baumannii* in Pennsylvania. Antimicrob .Agents. Chemother. 55 429-432.
- 108-Drissi M., Poirel L., Mugnier P.D., Baba Ahmed Z., Nordmann P. 2010 Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases November, Volume 29, Issue 11, pp 1457-1458.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 109-Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha SN, Rolain JM 2013 Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. Int. J. Infect. Dis. Sep. 17(9) e739-43.
- 110-Touati M, Diene SM, Racherache A, Dekhil M, Djahoudi A, Rolain JM 2012 Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria. Int. J. Antimicrob. Agents. Jul 40(1) 89-91.
- 111-Bakour S, Touati A, Sahli F, Ameer AA, Haouchine D, Rolain JM 2013 Antibiotic resistance determinants of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Algeria. Diagn. Microbiol. Infect Dis. Aug. 76(4) 529-31.
- 112-Kim, C. K., Y. Lee, H. Lee, G. J. Woo, W. Song, M. N. Kim, W. G. Lee, S.H. Jeong, K. Lee, and Y. Chong., 2010. Prevalence and diversity of carbapenemases among imipenem-nonsusceptible *Acinetobacter* isolates in Korea: emergence of a novel OXA-182. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 68 432-438. Antibiotiques 01/2010; 12(4):205-227.
- 113-Turton, J. F., N. Woodford, J. Glover, S. Yarde, M. E. Kaufmann, and T. L. Pitt., 2006a. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J. Clin. Microbiol. 44 2974-2976.
- 114-Turton, J. F., M. E. Ward, N. Woodford, M. E. Kaufmann, R. Pike, D. M. Livermore, and T. L. Pitt. 2006. The role of ISAb<sub>1</sub> in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol. Lett 258 72-7.
- 115-Chen, T. L., Y. T. Lee, S. C. Kuo, P. R. Hsueh, F. Y. Chang, L. K. Siu, W. C. Ko, C. P. Fung., 2010. Emergence and distribution of plasmids bearing the blaOXA-51-like gene with an upstream ISAb<sub>1</sub> in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. Antimicrob. Agents. Chemother. 54 4575-4581
- 116-Bakour S, Olaitan AO, Ammari H, Touati A, Saoudi S, Saoudi K, Rolain JM 2015 Emergence of Colistin- and Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report. Microb. Drug Resist. Jun. 21(3) 279-85.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 117-Poirel, L., S. Marqué, C. Héritier, C. Segonds, G. Chabanon, and P. Nordmann. 2005. OXA-58, a novel class D  $\beta$ -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 49 202-208.
- 118-Bogaerts, P., T. Naas, I. Wybo, C. Bauraing, O. Soetens, D. Piérard, P. Nordmann, and Y. Glupczynski. 2006. Outbreak of infection by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-58 in Belgium. *J. Clin. Microbiol.* 44 4189-4192.
- 119-Castanheira, M., A. Wanger, M. Kruzel, L. M. Deshpande, and R. N. Jones. 2008. Emergence and clonal dissemination of OXA-24- and OXA-58-producing *Acinetobacter baumannii* strains in Houston, Texas: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J. Clin. Microbiol.* 46 3179-80.
- 120-Poirel L, Nordmann P., 2006. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin. Microbiol. Infect.* 129 826-836.
- 121-Merkier AK, Catalano M, Ramírez MS, Quiroga C, Orman B, Ratier L, Famiglietti A, Vay C, Di Martino A, Kaufman S, Centrón D. 2008 Jun 1 Polyclonal spread of bla(OXA-23) and bla(OXA-58) in *Acinetobacter baumannii* isolates from Argentina. *J. Infect. Dev. Ctries.* ; 23 235-40
- 122-Mendes, R. E., J. M. Bell, J. D. Turnidge, M. Castanheira, and R. N. Jones., 2009. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemases among *Acinetobacter spp.* in Asia-Pacific nations: report from the SENTRY Surveillance Program. *J. Antimicrob. Chemother.* 63 55-9.
- 123-Zarrilli, R., D. Vitale, A. Di Popolo, M. Bagattini, Z. Daoud, A. U. Khan, C. Afif, and M. Triassi., 2008. A plasmid-borne blaOXA-58 gene confers imipenem resistance to *Acinetobacter baumannii* isolates from a Lebanese hospital. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 52 4115-4120.
- 124-Lee, K., M. N. Kim, T. Y. Choi, S. E. Cho, S. Lee, D. H. Whang, D. Yong, Y. Chong, N. Woodford, D. M. Livermore, the KONSAR Group., 2009. Wide dissemination of OXA-type carbapenemases in clinical *Acinetobacter spp.* Isolates from South Korea. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 33 520–524.
- 125-Peleg, A. Y., C. Franklin, J. M. Bell, and D.W. Spelman., 2006. Emergence of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* recovered from blood cultures in Australia. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 27 759-761.
- 126-Cornaglia, G., H. Giamarellou, and G. M. Rossolini. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet. Infect. Dis* 11 381-93.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 127-Huang LY, Lu PL, Chen TL, Chang FY, Fung CP, Siu LK., 2010. Molecular characterization of  $\beta$ -lactamase genes and their genetic structures in *Acinetobacter* genospecies 3 isolates in Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54 6 2699-2703.
- 128-Di Popolo A, Giannouli M, Triassi M, Brisse S, Zarrilli R., 2011. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus sequence typing scheme. *Clin. Microbiol. Infect.* 17 2 197-201.
- 129-Rolain JM, Parola P, Cornaglia G., 2010. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? *Clin. Microbiol. Infect.* 16 1699–701
- 130-Karthikeyan K, Thirunarayan MA, Krishnan P., 2010. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. *J. Antimicrob. Chemother.* 65 10 2253-2254.
- 131-Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, Gatermann SG, Bonnin RA, Poirel L., 2011. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J. Antimicrob. Chemother.* 66 6 1260-1262
- 132-Anne Boulanger, Thierry Naas, Nicolas Fortineau, Samy Figueiredo, and Patrice Nordmann 2012 NDM-1-Producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria *Antimicrob. Agents Chemother.* Apr; 56(4) 2214–2215.
- 133-Bogaerts P., Rezende de Castro R., Roisin S., Deplano A., Te-Din Huang, Hallin M., Denis O., Glupczynski Y. 2012 . Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Volume 67, Issue 6 Pp. 1552-1553.
- 134-Bakour S, Touat A, Bachiri T, Sahli F, Tiouit D, Naim M, Azouaou M, Rolain JM 2014 . First report of 16S rRNA methylase ArmA producing *Acinetobacter baumannii* and rapid spread of metallo- $\beta$ -lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. *J. Infect. Chemother.* Nov;20(11):696-701
- 135- Elisha, B. G., H. Segal, R. Jacobson, and S. Garny. 2006. Carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*: OXA-23 and CarO. . *In t. I. S. o. t. b. o. Acinetobacter.*(ed.).
- 136-Murray, P. R., M.A. Pfaller, and K.S. Rosenthal., 2005. *Médical microbiology*, 5th ed, St-Louis, Missouri

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 137-Bernaud G., Benzerara Y., Gravis 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.
- 138-Bagge N., Ciofu O., Hentzer N., Campbell J.I., Givskov M., Hoiby N., 2002. Constitutive high expression of chromosomal  $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 46 3406-11
- 139-Philippon A., Arlet G., Jacoby G.A., 2002. Plasmid-determined *AmpC*-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 46 1-11.
- 140-Segal H, Garry S, Elisha BG., 2005. Is ISABA-1 customized for *Acinetobacter*? *FEMS Microbiol. Lett.* 2005, 243 2 425-429.
- 141-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.
- 142-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 2 917-21
- 143-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.
- 144-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  $\beta$ barrel outer membrane proteins. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 49 4 1432-1440.
- 145-Toussaint A., Merlin C., 2002. Mobile elements as a combination of functional modules. *Plasmid* (47) 26-35.
- 146-Magnet, S., P. Courvalin, and T. Lambert. 2001. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob. Agents .Chemother* 45 3375-80.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 147-Nemec A, Dolzani L, Brisse S, van den Broek P, 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(Pt 12) 1233-1240.
- 148-Galimand, M., P. Courvalin, and T. Lambert. 2003. Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in *Enterobacteriaceae* due to 16S rRNA methylation. Antimicrob. Agents. Chemother. 47 8 2565-71.
- 149-Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J., Butt F., Balakrishnan R. et al., 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. Lancet. Infect. Dis 10 597–602.
- 150-Magnait, S., P. Corvallis, and T. Lambert., 2001. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. Antimicrob .Agents. Chemother 45 3375-80.
- 151-Naas T, Bentchouala C, Lima S, Lezzar A, Smati F, Scheftel JM, Nordmann 2009 Plasmid-mediated 16S rRNA methylases among extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* Seftenberg isolates from Algeria. J .Antimicrob. Chemother. Oct;64 4 866-8.
- 152-Naas T, Bentchouala C, Cuzon G, Yaou S, Lezzar A, Smati F, Nordmann P 2011 . Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Infantis producing ArmA 16S RNA methylase and CTX-M-15 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in a neonatology ward in Constantine, Algeria. Int .J. Antimicrob. Agents. Aug;38 2 135-9.
- 153-Frederique Maurice. Plasticite structurale et émergence d'antibioresistance à large spectre étude d'une aminoglycoside acetyltransferase et recherche d'inhibiteurs. Life Sciences. Univers.Pierre et Marie Curie - Paris VI (thèse)
- 154-Guillard.T, Cambau.E 2012. Une brève histoire des résistances plasmidiques aux quinolones. Journal des anti-infectieux. Vol. 15 - N° 1 - p. 1-8.
- 155-Cerqueira GM, Peleg AY. 2011 Dec. Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity IUBMB Life. 2011 Dec 63(12) 1055-60.
- 156-Bouvet P.J.M et Joly-Guillou M.L 2000 *Acinetobacter* in précis de Bactériologie clinique chap 69 pp1239-1252 édition ESKA

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 157-Ghazi.F. 2014. identification des bactéries lactiques par l'utilisation des techniques moléculaires applicables dans le domaine de la taxonomie ; thèse de doctorat en microbiologie appliquée, faculté de Biologie .université d'Oran.
- 158-Harald Seifert, Lucilla Dolzani, Raffaella Bressan, Tanny van der Reijden, Beppie van Strijen, Danuta Stefanik, Herre Heersma, Lenie Dijkshoorn . 2005. Standardization and Interlaboratory Reproducibility Assessment of Pulsed-Field Gel Electrophoresis-Generated Fingerprints of *Acinetobacter baumannii* in Journal of Clinical Microbiology 43(9) 4328-35.
- 159-Hamouda A, Evans BA, Towner KJ, Amyes SGB 2010 Characterization of epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* isolates from four continents by use of multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and sequence-based typing of blaOXA-51-like genes. J.Clin Microbiol 48 2476–2483.
- 160-Diancourt L, Passet V, Nemec A, Dijkshoorn L, Brisse S.2010. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. PLoS One; 5(4) e10034.
- 161-Van Dessel H, Dijkshoorn L, van der Reijden T, Bakker N, Paauw A, van den Broek P, et al. 2004. Identification of a new geographically widespread multiresistant *Acinetobacter baumannii* clone from European hospitals. Res. Microbiol; 155 105-12.
- 162-Higgins PG, Hujer AM, Hujer KM, Bonomo RA, Seifert H. 2012. Interlaboratory reproducibility of DiversiLab rep-PCR typing and clustering of *Acinetobacter baumannii* isolates. J. Med. Microbiol 61 137-41.
- 163-Pourcel C, Minandri F, Hauck Y, D'Arezzo S, Imperi F, Vergnaud G, Vica P.2011 Identification of variable-number tandem-repeat (VNTR) sequences in *Acinetobacter baumannii* and interlaboratory validation of an optimized multiple-locus VNTR analysis typing scheme. J. Clin. Microbiol. Feb 49(2) 539-48.
- 164-Zander E, Nemec A, Seifert H, Higgins PG 2012 Association between  $\beta$ -lactamase-encoding bla(OXA-51) variants and DiversiLab rep-PCR-based typing of *Acinetobacter baumannii* isolates. J. Clin. Microbiol. 50:1900–1904
- 165- Rafei Rayane, Fouad Dabboussi, Monzer Hamze, Eveillard Matthieu, Lemarié Carole, Gaultier Marie-Pierre, Mallat Hassan , Rima Moghnieh, Rola Husni-Samaha, Marie-Laure Joly-Guillou, Kempf Marie . 2014 Dec 26. Molecular Analysis of *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated in Lebanon Using Four Different Typing Methods Published online.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24827985>

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 166-Valérie Delbos. Avril 2012 . Manifestations cliniques et traitement des infections à *Acinetobacter baumannii* Infectiologie, Francophone des Laboratoires – Vol 42 .N° 441.
- 167-Doughari, H. J., P. A. Ndakidemi, I. S. Human, and S. Benade. 2011. The Ecology, Biology and Pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: An Overview. *Microbes Environ* 26:101-12.
- 168-GaynesJR, Edwards JR.2005. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*; 41 (6):848-54
- 169-Rahal K et al. (de 2000 à 2015) Rapports d'évaluation du réseau Algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques AARN (Algerian Antimicrobial Resistance Network)
- 170-Lachhab Z, Frikh M, Maleb A, Kasouati J, Doghmi N, Ben Lahlou Y, Belefquih B, Lemnouer A, Elouennass M. 2017. Bacteremia in Intensive Care Unit: Clinical, Bacteriological, and Prognostic Prospective Study. *Can J Infect. Dis. Med. Microbiol.*Vol.2017.  
Published online <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- 171-Mader, K., G. Terhes, E. Hajdu, E. Urban, J. Soki, T. Magyar, K. Marialigeti, M.Katona, E. Nagy, and S. Turi. 2010. Outbreak of septicaemic cases caused by *Acinetobacter ursingii* in a neonatal intensive care unit. *Int. J Med. Microbiol* 300:338-40.
- 172-Ben A. Haj Khalifa, M. Khedher.2010 Profils de sensibilité d'*Acinetobacter baumannii* isolé dans la région de Mahdia Laboratoire de microbiologie, hôpital Tahar-Sfar, Djbal dar ouaja, 5100 Mahdia, Tunisie. *Médecine et Maladies infectieuses* Vol 40 N°2 pages 126-128.
- 173-Anton Y. Peleg, M.B., B.S., M.P.H. and David C. Hooper, M.D 2010 May 13; Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria *N Engl.J Med*. 362(19): 1804–1813.
- 174-Marie-Laure Joly-Guillou. 2004. Biologie clinique [90-05-0005], hôpital louis mourier, 178, rue des renouilliers, 92701 colombes France .
- 175-Wikipedia *Acinetobacter* <https://fr.wikipedia.org/wiki/Acinetobacter>.
- 176-Higgins PG, Lehmann M, Wisplinghoff H, Seifert H. 2010. gyrB multiplex PCR to differentiate between *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter* genomic species 3. *J. Clin. Microbiol*; 48:4592-4.
- 177-Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME,Pitt T . 2006 . Identification of *Acinetobacter baumannii* by détection of the blaOXA- 51-like carbapenemase gène intrinsic to this species. *J. Clin. Microbiol*; 44:2974-6.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 178-Chang HC, Wei YF, Dijkshoorn L, Vaneechoutte M, Tang CT, Chang TC. 2005. Species-level identification of isolates of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex by sequence analysis of the 16S-23S rRNA gene spacer region. *J. Clin. Microbiol*;43:1632-9.
- 179-Kempf M, Bakour S, Flaudrops C, Berrazeg M, Brunel JM, Drissi M, et al 2012. Rapid detection of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *PLoS One*;7(2): e31676. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- 180-Bouvet et Joly-Guillou 2000 *Acinetobacter* in Précis de bactériologie clinique chap 69 :1239-1252 édition ESKA
- 181-Hans H Siegrist Mars 2000 *Acinetobacter spp* : infections nosocomiales, épidémiologie et résistance aux antibiotiques Swiss-NOSO vol 7 Numéro 1
- 182- Lambert T. 2008 résistance par efflux chez *Acinetobacter baumannii* EA 4043, faculté de pharmacie, ParisXI et Institut Pasteur Paris France 2000 230 /57s 28ème RICAI DECEMBRE
- 183- Mansour W, Bouallegue O, Jeday S, Najia W, Boujaafar N 2007 caractérisation clinico-épidémiologique des infections à *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème au CHU Sahloul Tunisie Annales de biologie clinique volume 65, Numéro 6 593-9 Novembre-Décembre article original
- 184-Elouennass M, Bajou T, Lemnouer A.H, Foissaud V, Hervé V, Baaj A .J 2003 *Acinetobacter baumannii* :Etude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat au Maroc Médecine et maladies infectieuses volume 33 , page 361-364
- 185-Baba Ahmed-Kazi Tani Z Arlet G 2014 .News of antibiotic resistance among Gram-negative bacilli in Algeria.] *Pathol Biol (Paris)*. 62(3):169-78
- 186-Elabd FM, Al-Ayed MS, Asaad AM, Alsareii SA, Qureshi MA, Musa HA 2015 . Molecular characterization of oxacillinases among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolates in a Saudi hospital. *J. Infect .Public. Health*. 8(3) 242-7.
- 187-Obeidat N, Jawdat F, Al-Bakri AG, Shehabi , 2014 Major biologic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environmental and patients' respiratory tract sources. *AAJ Infect. Control* .Apr; 42 (4) 401-4.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 188-Fouad M, Attia AS, Tawakkol WM, Hashem AM 2013 Emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* harboring the OXA-23 carbapenemase in intensive care units of Egyptian hospitals. *Int. J. Infect. Dis.* Dec 17(12) e1252-4
- 189-Beriş FŞ, Budak EE, Gülek D, Uzun A, Çizmeçi Z, Mengeloğlu FZ, Direkel Ş, Çetinkol Y, Ay Altıntop Y, Iraz M, Dal T, Say Coşkun SU, Balcı PÖ, Kayman T, Çalışkan A, Yazıcı Y, Tosun İ, Ertürk A, Çopur Çiçek A 2016. Investigation of the frequency and distribution of beta-lactamase genes in the clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* collected from different regions of Turkey a multicenter study. *Mikrobiyol. Bul.* Oct 50(4) 511-521.
- 190-Pournaras S, Dafopoulou K, Del Franco M, Zarkotou O, Dimitroulia E, Protonotariou E, Poulou A, Zarrilli R, Tsakris A; 2017 Apr 18 Greek Study Group on *Acinetobacter* Antimicrobial Resistance Predominance of international clone 2 OXA-23-producing-*Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Greece, 2015: results of a nationwide study. *Int. J Antimicrob Agents.* 49(6):749-753.
- 191-Principe L1, Piazza A2, Giani T3, Bracco S1, Caltagirone MS2, Arena F3, Nucleo E2, Tammaro F3, Rossolini GM4, Pagani L2, Luzzaro F5 .2014 Jun 11. Epidemic diffusion of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Italy: results of the first cross-sectional countrywide survey. *J. Clin. Microbiol.* 52(8) 3004-10.
- 192-Chen Y, Gao J, Zhang H, Ying C 2017. Spread of the blaOXA-23-Containing Tn2008 in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates Grouped in CC92 from China. *Front. Microbiol.* 6;8 163. eCollection.
- 193-Al Atrouni A, Hamze M, Jisr T, Lemarié C, Eveillard M, Joly-Guillou ML, Kempf M. 2016 Wide spread of OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to clonal complex II in different hospitals in Lebanon. 247-nt *J. Infect. Dis.* Nov; 52:29-36.
- 194-Rafei R, Dabboussi F, Hamze M, Eveillard M, Lemarié C, Mallat H, Rolain JM, Joly-Guillou ML, Kempf M 2014 First report of blaNDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* isolated in Lebanon from civilians wounded during the Syrian war. *Int. J. Infect. Dis.* Apr ;(21) 21-3.
- 195-Hageaux Sylvie (Cadre Infirmier) 2015 .Les précautions standards, et précautions contact.(cour)Service Hygiène et Gestion des risques liés aux soins Centre Hospitalier de Saint-Quentin Diplôme Universitaire Hygiène Hospitalière et Lutte contre les Infections Nosocomiales. Amiens Université de Picardie session 2014-2015.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 196-Amhis.W et Al; Directives relatives à l'hygiène de l'environnement dans les établissements de santé publics et Privés MSPRH/Direction de la prévention. ANDS 2015.
- 197-Fournier PE, Richet H. 2006. the epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin. Infect. Dis; 42 (5) 692-9.
- 198-Garrouste-Orgeas M, Marie O, Rouveau M et al. 1996. Secondary carnage with multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiela* in adult ICU population: relationship with nosocomial infections and mortality. J.Hosp Infect; 34 (4) 279-89.
- 199-Bergogne-Berezin, E., H. Fiedman, and M. Bendinelli 2008. *Acinetobacter* biology and pathogenesis in Springer (éd.), infectious agents and pathogenesis.
- 200-Cisneros JM, Rodriguez-Bano J.2002 Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii* epidemiology, clinical features and treatment. Clin .Microbiol. Infect;8:687-93.
- 201-Donagan N, Blair R, Croxton M, Jones M, Pic-Aluas L. 2011.Active microbiologie surveillance for *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit during an outbreak. Clin. Microbiol. Infect. Nov; 17(11) 1691–1697.
- 202-Modibo Fomba. 2006 Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* à coagulase négative. Thèse de pharmacie faculté de pharmacie Mali.
- 203- Delbos Valérie. Manifestations cliniques et traitement des infections à vol 41. N° 441.
- 204-Eveillard M, Joly-Guillou. M.-L.. 2012 Laboratoire de bactériologie-hygiène, Groupe d'étude des interactions hôtes-pathogènes (GEIHP, UPRES EA 3142), UFR médecine, université d'Angers, France .314-319,
- 205-Garca-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jimnez-Jimnez FJ, Prez-Paredes C, Barrero-Almodvar AE, Gili-Miner 2001 M. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* Clin. Infect. Dis. Oct 1; 33(7)
- 206-Bendadi.A 2012 Profil épidémiologique de l'*Acinetobacter baumannii* au niveau des services de réanimation du CHU Hassa II de FES. Juin. Mémoire université Sidi-Mohamed Ben Abdallah faculté de médecine et pharmacie.
- 207.LT.SAndriamanantena.LT,E,Ratsima,H.CRakotonirina,F.Randrianirina,J.F .Carod,V.Richard,A.Talamin 2010. Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in different hospitals of Antananarivo,Madagascar Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo,Madagascar .

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 208-Al-Gethamy MM, Faidah HS, Ademola HA, Haseeb A, Ashgar SS, Mohammed TK, Mohammed AH, Khurram M, Hassali MA 2017 Jan Risk factors associated with multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial infections at a tertiary care hospital in Makkah, Saudi Arabia - a matched case-control study. J. Int. Med. Res.45(3) 1181-1189.
- 209-Vaux Sophie et col.2012 Signalement des infections nosocomiales à *A.baumannii* résistant à l'imipénème, INVS (institut de veille sanitaire), BEH (bulletin épidémiologique hebdomadaire) du 24 juillet /n°31-32 page 355. Franc
- 210-Rivera G, Bulnes J, Castillo C, Ajenjo MC, Garcia P, Labarca J. 2016 Jan 31; Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in a university hospital: Role of inter-hospital transmission. J Infect Dev Ctries. 10(1):96-9.
- 211-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. Clin. Infect. Dis (39) 309-17.
- 212-Zilberberg MD, Shorr AF. 2010 Ventilator-associated pneumonia the clinical pulmonary infection score as a surrogate for diagnostics and outcome.Clin. Infect. Dis;51 (Suppl):S131-5.
- 213- Karageorgopoulos DE, Falagas ME.2008. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections.Lancet.Infect Dis;8 12 751-62
- 214-Poulakou G, Kontopidou FV, Paramythiotou E, et al. 2008. Tigecycline in the treatment of infections from multi-drug resistant gram-negative pathogens. J Infect. 58 4 273-84. 2009.
- 215-Vasilev K, Reshedko G, Orasan R, et al. 2008. A Phase 3, open-label, non-comparative study of tigecycline in the treatment of patients with selected serious infections due to resistant Gram-negative organisms including *Enterobacter* species, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. J. Antimicrob. Chemother; 62(Suppl) 29-40.
- 216-Rodloff AC, Leclercq R, Debbia EA, et al. 2008. Germany , Italy, Spain and the UK as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. Clin Microbiol. Infect; 14 4 307-14.
- 217-Imberti R, Cusato M, Villani P, et al. 2010. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically 111 patients after IV colistin methanesulfonate administration. Chest 138 6 1333-9.

## BIBLIOGRAPHIE

---

218-Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, et al. 2010. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. *Int. J. Antimicrob. Agents* 35 2 194-9.

219-Pachon-Ibanez ME, Docobo-Perez F, Jimenez-Mejias ME, et al. 2011. Efficacy of rifampin, in monotherapy and in combinations, in an experimental murine pneumonia model caused by panresistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Eur J. Clin. Microbiol. Infect Dis* 30 7 895-901.

220-Song JY, Cheong HJ, Lee J, et al. 2009. Efficacy of monotherapy and combined antibiotic therapy for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia in an immunosuppressed mouse model. *Int. J. Antimicrob. Agents* 33 1 :33-9.

221-Ferez F, Hujer A, Hujer K, Decker B, Rather P, Bonomo R. 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51 10 3471-84.

222-Rodriguez-Hernández MJ, Saugar J, Docobo-Pérez F, de la Torre BG, et al. 2006. Studies of the antimicrobial activity of cecropin A-melittin hybrid peptides in colistin-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. J. Chemother*; 58 1 95-100.

223-Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. 2011. Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review *International Journal of Antimicrobial Agents* 37 2 102-9.

224-Percin D, Akyol S, Kalin G. 2014. In vitro synergism of combinations of colistin with selected antibiotics against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *GMS .Hyg. Infect .Control.* Aug 19; 9 2 Doc14

225-Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Gutiérrez-Pizarraya A, Espejo-Gutiérrez de Tena E, Artero-González ML, Corcia-Palomo Y, Bautista-Paloma 2013. J Clinical efficacy and safety of the combination of colistin plus vancomycin for the treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Chemotherapy*; 59(3) 225-31.

226-Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, Mattei A, De Cristoforo M, Murino P, Bassetti M, Malacarne P, Petrosillo N, Galdieri N, et al 2013. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a multicenter randomized clinical trial. *Clin. Infect. Dis.* Aug; 57(3) 349-58.

## BIBLIOGRAPHIE

---

227-Hornsey M, Phee L, Stubbings W, Wareham DW.2013. In vitro activity of the novel monosulfactam BAL30072 alone and in combination with meropenem versus a diverse collection of important Gram-negative pathogens. Int. J. Antimicrob. Agents. Oct; 42(4) 343-6.

228-Spiliopoulou A, Jelastopulu E, Vamvakopoulou S, Bartzavali C, Kolonitsiou F, Anastassiou ED, Christofidou M .2014. In vitro activity of tigecycline and colistin against *A. baumannii* clinical bloodstream isolates during an 8-year period. J Chemother. Published on line <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24827985>

229-Turk Dagi H, Kus H, Arslan U, Tuncer I Turk Dagi H, Kus H, Arslan U, Tuncer I. 2014 .In vitro synergistic activity of sulbactam in combination with imipenem, meropenem and cefoperazone against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. Mikrobiyol Bul. Apr;48(2) 311-5.

230-Čiviljak R, Giannella M, Di Bella S, Petrosillo N 2014 Could chloramphenicol be used against ESKAPE pathogens? A review of in vitro data in the literature from the 21st century.in Expert Rev. Anti .Infect. Ther. Feb;12(2) 249-64

231-Kassamali Z, Jain R, Danziger LH. 2014. An Update on the arsenal for multidrug-resistant *Acinetobacter* infections: Polymyxin antibiotics. Int .J. Infect Dis. Nov 5. 30125-32

232-Wang T, Su J. 2016 *Bacillus subtilis* from soybean food shows antimicrobial activity for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* by affecting AdeS gene J. Microbiol. Biotechnol. 26(12), 2043–2050.

233-Soltan Dallal MM, Davoodabadi A, Abdi M, Hajiabdolbaghi M, Sharifi Yazdi MK, Douraghi M. 2017. Inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* and *Lb. fermentum* isolated from the faeces of healthy infants against nonfermentative bacteria causing nosocomial infections.New Microbes New Infect. 2016 Sep 28;15:9-13. eCollection .

234-Ho YH, Tseng CC, Wang LS, Chen YT, Ho GJ, Lin TY, Wang LY, Chen LK. 2016. Application of Bacteriophage-containing Aerosol against Nosocomial Transmission of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit. PLoS One.16;11(12) e0168380. doi:10.1371/journal.pone.0168380. eCollection

## BIBLIOGRAPHIE

---

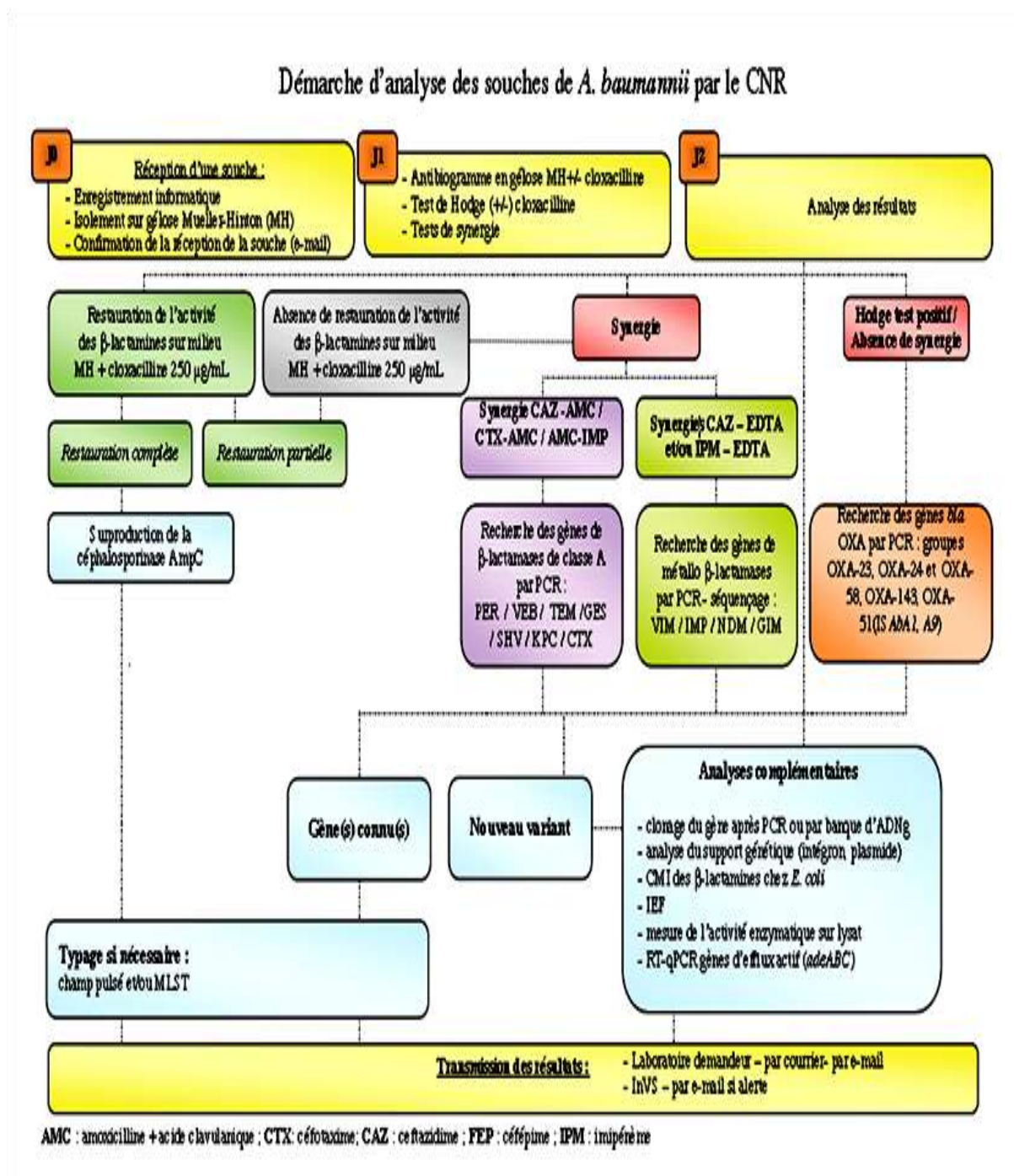
- 235-Huang G ,Shen X, Gong Y, Dong Z, Zhao X, Shen W, Wang J, Hu F, Peng Y .2014 Antibacterial properties of *Acinetobacter baumannii* phage Abp1 endolysin (PlyAB1). BMC Infect Dis. Dec 12; 14:681.
- 236-McConnell MJ, Pachôn J. 2010 Active and passive immunization against *Acinetobacter baumannii* using an inactivated whole cell vaccine. Vaccine, 29(1) 1-5.
- 237-Contrôle rapide d'une épidémie par une souche d'*Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème importée de pays émergent dans un service de réanimation en France. 2016 Guth C., Cavalli Z., Pernod C., Lhopital C., Wey PF., Gerome P., Turc J. Médecine et Santé Tropicales ; 26 : 110-112
- 238-Alain.S. 2015 Pharmacien gérant PUI Stérilisation. La stérilisation hospitalière CHU Amiens D.U Hygiène Hospitalière.2014/2015.
- 239- Olesen I, Hasman H, Aarestrup FM. 2004. Prevalence of  $\beta$ -lactamases among ampicillin-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from food animals in Denmark. Microb Drug Resist. Winter;10(4): 334-40.
- 240- Touati, A., L. Brasme, S. Benallaoua, A. Gharout, J. Madoux, and C. C. De. 2008. First report of qnrB-producing *Enterobacter cloacae* and qnrA-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. Diagn.Microbiol..Infect.Dis. 60 287-290.

# ANNEXES

---

## Annexe 1

### Démarche d'analyse des souches d'*Acinetobacter baumannii* par le CNR (CNR *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* Besançon France)



### Annexe 2

#### Technique d'antibiogramme par diffusion des disques d'antibiotiques

**La méthode de diffusion ou des disques en milieu solide** est la plus simple. Elle consiste à ensemencer en surface, un milieu solide par inondation de la souche à tester. Puis à déposer des disques de papier buvard comprenant un antibiotique à une certaine concentration.

- **Méthode de Réalisation :**

- préparation de l'inoculum.
- ajustement de la turbidité de l'inoculum.
- ensemencement des boîtes.
- disposition des disques d'antibiotiques.
- lecture des diamètres des zones d'inhibition.
- interprétation.

- **Milieu pour antibiogramme**

Milieu Mueller- Hinton (MH).

Il doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm.

Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

- **Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF (McFarland) ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.
- La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10<sup>ème</sup> dans le cas où l'on teste des molécules à charge SFM (c'est-à-dire des antibiotiques pour lesquels il n'existe pas encore de critères d'interprétation dans la technique CLSI)
- L'inoculum bactérien doit être ensemencé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

- **Ensemencement**

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

- **Application des disques d'antibiotiques**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

- ✓ **Liste des antibiotiques à tester pour *Acinetobacter baumannii* :**

Ticarcilline (75µg) , Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg),  
Pipéracilline (100 µg), Céftazidime ( 30 µg), Imipénème (10µg),  
Amikacine (30µg), Gentamicine (10µg) Tobramycine (10µg) ,  
Nétilmicine (CMI seulement), Ciprofloxacine (5µg ), Lévofoxacine (5µg),  
Doxycycline (30µg), Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg),  
Colistine (CMI seulement), Rifampicine (30µg).

## ANNEXES

### Technique CLSI d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques).

| Microorganismes         | Milieu pour antibiogramme | Inoculum microbien                                                             | Conditions d'incubation                      |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| <i>Acinetobacter</i> sp | Gélose<br>Mueller-Hinton  | 0,5 MF en eau physiologique<br><br>(diluer au 1/10ème pour les charges CA-SFM) | 18 heures à 35°C<br><br>Atmosphère ordinaire |

- **Lecture**

-Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition les mesures seront prises à l'aide d'un pied à coulisse, en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.

- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

### Contrôle de qualité

Pour chaque espèce bactérienne testée, un contrôle de qualité est réalisé dans les mêmes conditions de test et d'incubation.

Souches de contrôle de qualité de l'antibiogramme

| Microorganismes                                    | Souche de référence ATCC                 |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------|
| <i>Pseudomonas</i> sp.<br><i>Acinetobacter</i> sp. | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 |

### ANNEXE 3

#### Tests complémentaires : pour rechercher la céphalosporinase AmpC ,BLSE, Metallo- $\beta$ -lactamases

##### 1. Test à la cloxacilline : recherche de la céphalosporinase AmpC (CNR)

constituer une solution mère à partir d'un flacon de cloxacilline en poudre, dosée à 1 gramme, dans 10ml d'eau distillée stérile, prélever 145 microlitres de cette solution, à verser dans la boîte, et additionner 58 ml de Mueller Hinton, boîte carrée). L'apparition d'un diamètre d'inhibition, ou son augmentation de manière significative, autour du disque de ceftazidime dans la boîte de cloxacilline par rapport à la boîte sans cloxacilline , indique la présence d'une céphalosporinase AmpC.

##### Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline) CLSI

|                                               |                                         |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Cloxacilline                                  | <i>Acinetobacter.sp</i>                 |
| Concentration<br>en cloxacilline              | 0,25mg/ml                               |
| Préparation de la<br>solution de cloxacilline | 25mg de Cloxa +<br>10ml d'eau distillée |
| Pour une boîte<br>ronde (90mm)                | 2ml de la solution +<br>18ml de MH      |

- **Technique**

L'antibiogramme sera réalisé sur MH (Muller Hinton) additionné de cloxacilline (selon le tableau ci-dessus).

On dépose sur la surface gélosée ensemencée les disques antibiotiques ( $\beta$ -lactamines) (*Acinetobacter sp*).

Incuber 18 Heures a 35°C

**NB :** Un contrôle de qualité sera réalisé avec les souches *P.aeruginosa* ATCC 27853.

- **Lecture**

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline à celui réalisé sur MH sans cloxacilline.

**-Interprétation**

L'inhibition de la céphalosporinase entraîne :

- 1) L'apparition des phénotypes sauvages d'*Acinetobacter* sp.

Ou

- 2) L'apparition d'autres mécanismes de résistances acquises tels que :
  - synthèse de BLSE
  - pénicillinase
  - imperméabilité

**Recommandation**

- En cas d'absence de culture, réaliser une CMI à la cloxacilline de la souche à tester. La concentration pour le test à la cloxacilline sera inférieure de deux dilutions par rapport à la CMI.

## **2. Recherche d'une BLSE :**

### **Méthodes de détection de la $\beta$ LSE pour *Acinetobacter* sp : CLSI**

**-Technique :**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10 $\mu$ g) à 30mm (centre à centre) d'un disque de C3G : céftazidime (CAZ 30 $\mu$ g), aztréonam (ATM 30  $\mu$ g), céfépime (FEP 30  $\mu$ g).

**Incubation:**

Incuber 18 H à 35 °C

**-Lecture:**

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou « bouchon de champagne »

Entre les disques :

- TCC et CAZ
- TCC et ATM
- TCC et FEP

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

- 1- le rapprochement des disques TCC et CAZ (15mm et 20mm centre à centre) au lieu de 30mm.
- 2- la neutralisation de la Case : Si la souche est productrice d'une Case hyper produite, faire le test de synergie sur Mueller-Hinton additionne (de 250mg/l à 500 mg/l) de cloxaciline.

### **Technique : Test de confirmation ou technique du double disque**

Ce test se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme.

Déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) à une distance de 25mm.

Certains auteurs signalent une meilleure détection des BLSE en testant un disque de céfopérazone (75µg) avec un disque de TCC (75/10 µg).

-Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.

-Après 1heure d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX ou CRO(ceftriaxone) (ou CAZ).

-Incuber la boîte 18 H à 35°C.

### **-Lecture et interprétation**

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est  $\geq 5$ mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

L'interprétation (R, I ou S) se fait selon les diamètres mesurés.

L'interprétation du test consiste à répondre :

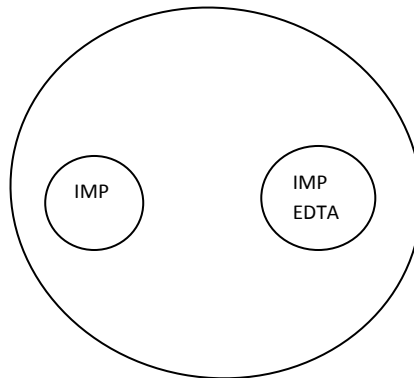
suite à la révision des break points des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.

A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

### 3. Recherche de MBL : test à l'EDTA

sur une boîte de Muller Hinton, seront disposés les disques d'imipénème (IMP) et céftazidime (CAZ), d'une part et IMP, CAZ, imprégnés d'une solution d'EDTA (qui précipite et neutralise les métallo-enzymes), un disque vierge sera également imprégné, de 10 microlitres d'EDTA (100 milli-molaire), et disposé en amont des deux séries de disque.

L'EDTA inhibe l'enzyme une augmentation du diamètre d'inhibition du disque IMP +EDTA par rapport au disque IMP seul (supérieur à 5mm), ou une synergie entre Le disque d'imipénème+EDTA et EDTA seul indique la présence d'une métallo- $\beta$ -lactamases(MBL), par contre un test négatif orientera vers les autres carbapénèmases type oxacillinases par exemple.



### Méthodes de détection : CLSI

#### ✓ Inhibition par l'EDTA :

Déposer 750  $\mu$ g d'EDTA (soit 4  $\mu$ l d'une solution d'EDTA 0.5 M ) sur un disque d'imipénème et comparer le diamètre obtenu avec celui d'un disque d'imipénème seul.



### Test du double disque

### 4. Test de Hodge

- **Principe**

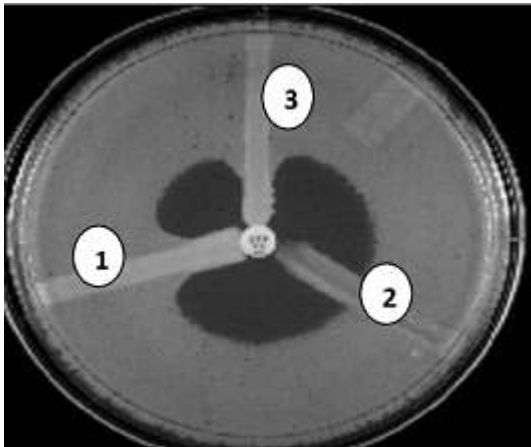
Ce test permet la mise en évidence d'une enzyme hydrolysant l'imipénème chez une souche résistante à cet antibiotique à l'aide d'une souche sensible.

- **Technique**

- Préparer une suspension d'*Escherichia coli* 25922 de 0.5 Mc Farland
- Diluer la suspension au 1/10<sup>ème</sup> (par l'addition de 0.5 ml de la suspension de 0.5 Mc Farland dans 4.5 ml de MHB)
- Ensemencer par écouvillonnage une gélose Muller Hinton et laisser sécher
- Déposer un disque d'imipénème au centre
- Dans une ligne droite, ensemencer la souche à tester du bord de disque jusqu'au bord de la boîte
- Incuber à 35°C pendant 16 à 24 heures.
- procéder de la même manière avec une souche témoin positif et négatif.

#### **Lecture**

L'hydrolyse de l'imipénème par la souche à tester se traduit par échancrure de la zone d'inhibition de la souche d'*Escherichia coli* indicatrice.



**1.**souche témoin positif hébergeant une carbapénémase ;**2.**souche témoin négatif ; **3.**souche à tester résistante à l'imipénème.

### ANNEXE 4

#### Protocole d'extraction d'ADN : protocole QIAGEN

Dans un tube Ependorf, mettre 180µl de Tampon ATL, puis ajouter la suspension bactérienne, et bien décharger l'ose, puis pipetter, le volume avec la pipette de 1000 µl pour bien homogénéiser.

Ajouter 20µl de protéinase K, vortéxer et incuber à 56°C, pendant trente minutes.

Ajouter 200µl de tampon AL, puis vortéxer, pendant 15 secondes, et incuber à 70°C, pendant dix minutes.

Ajouter 200µL d'éthanol à 100%, puis vortéxer, centrifuger rapidement, pour tout récupérer.

Prendre la suspension de l'Eppendorf, et la mettre dans la colonne Qiamp, puis centrifuger à 8000rpm pendant une minute et changer de tube.

Ouvrir doucement la colonne et ajouter 500µl de Tampon Aw1 (plus éthanol), puis centrifuger à 8000rpm pendant une minute (volume de 600µl) changer de tube.

Ouvrir doucement la colonne, et ajouter 500µl de Tampon Aw2 (plus éthanol), puis centrifuger à 14000 rpm pendant 3 minutes, changer de tube et recentrifuger (idem).

Placer la colonne dans un nouveau tube Eppendorf et jeter l'ancien tube, puis ajouter 150µl de Tampon AE, incuber pendant 5 minutes à température ambiante (80µl ), centrifuger à 8000rpm pendant une minute : l'extrait d'ADN est dans la solution obtenue

Vérification de la concentration d'ADN obtenue :

-par l'appareil nanodrope(Nanophotometer), Marque Implen

-Allumer et appuyer sur les boutons, 1 deux fois, puis nucleotid Acid, puis 1 double brun, puis 1, puis Lid factor.

-y introduire la colonne. Choisir Lid factor à 10, aller à OK.

Fermer avec Lid 10 (bouchon rouge), appuyer sur blank (mauve), pour étalonner, à Zéro, on enlève le bouchon, on essuie la cuve et le couvercle.

## ANNEXES

---

Prendre l'extrait d'ADN, vortéxer, prendre 2µl, le poser et recouvrir avec le bouchon, appuyer sur sample.

Vérifier la pureté de l'ADN en calculant le rapport 260/280 qui doit être compris entre 1,8 et 2.

### Exemple de résultats :

| souche | Indice de pureté<br>260/280 | Concentration<br>en<br>nanogrammes/µl | Volume à inclure<br>dans le protocole<br>PCR |
|--------|-----------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1A     | 0,049/0,024<br>=2,004       | 24, 3                                 | 2µl                                          |
| 2A     | 0 ,028/0,014=2              | 13 ,4                                 | 3µl                                          |
| 3A     | 0 ,04/0,019=2,1             | 19,8                                  | 3µl                                          |
| 4A     | 0 ,028/0,014=2              | 13,4                                  | 3µl                                          |
| 5A     | 0,043/0,022=1 ,95           | 20,8                                  | 3µl                                          |
| 6A     | 0,055/0 ,027=2,03           | 26,8                                  | 2µl                                          |
| 7      | 0,062/0,0 33=1,78           | 29,8                                  | 2µl                                          |
| 7'     | 1,95                        | 19,3                                  | 3µl                                          |

## ANNEXES

### ANNEXE 5

#### Protocole PCR

|                   |                                                                                                                 |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Amorces           | La concentration finale de chaque amorce, dans le tube PCR doit être à 0,5 micromolaire                         |
| Dntp              | Concentration finale en Dntp 0,2µM                                                                              |
| Tampon Taq        | Généralement le tampon de l'enzyme est 10 fois molaire et celui-ci au final doit être à une fois molaire.       |
| Mgcl <sub>2</sub> | La concentration en Mgcl <sub>2</sub> au final doit être comprise entre 1,5 et 4,5 µM                           |
| Taq polymerase    | Se trouve de façon générale à une concentration de 5U/µl et il faut 2,5 unité d'enzyme par réaction et par tube |
| ADN               | En général la quantité d'ADN utilisé est comprise entre 50 et 100ng                                             |
| DMSO (20X)        | Concentration finale 5%                                                                                         |
| Eau ultra pure    | L'eau permet d'ajuster le volume au volume souhaité                                                             |

Rajouter le témoin Positif et négatif

#### **Conditions d'amplification**

Etapes d'Amplification :

**Etape de préchauffage** : 94°C, 4 à 7min

**Dénaturation** : 94°C, 30 Sec

**Hybridation** : 55°C si GC% inférieur ou égal à 50%, 60°C si GC% supérieur à 50% 30sec

**Elongation** : 72°C, 60 secondes par Kb les trois étapes de dénaturation, d'hybridation et d'élongation sont à répéter 30 fois

**Etape de fin d'élongation** : 72°C, 7min

**Révélation** : les produits d'amplification sont ensuite révélés par électrophorèse en gel d'agarose ou la concentration varie suivant la taille des fragments que l'on souhaite observer.

## ANNEXES

---

Exemple de Mix :

| Mix en $\mu$ l    | 1echantillon<br>( $\mu$ l) | 3echantillons |
|-------------------|----------------------------|---------------|
| Eau               | 30(29)                     | 90            |
| Tampon            | 5                          | 15            |
| MgCl <sub>2</sub> | 2,5                        | 7,5           |
| DMSO              | 3                          | 9             |
| Amorce F          | 3                          | 9             |
| Amorce R          | 3                          | 9             |
| dntp              | 1                          | 3             |
| TAq<br>polymérase | 0,5                        | 1,5           |
| ADN               | 2 ou 3                     | 2 ou 3        |
| total             | 50 $\mu$ l                 |               |

En général il faut mettre 47 $\mu$ l de mix et 3 $\mu$ l d'ADN

## ANNEXES

### Annexe 6

#### Programme du thermocycleur :

|                                                                  | 1    | 2    | 3    | 4       | 5    | 6     | Pm                                                                   | Cycles                   |
|------------------------------------------------------------------|------|------|------|---------|------|-------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| NDM T°<br>OXA58                                                  | 94°C | 94°C | 60°C | 72°C    | 72°C | 4°C   | 515pb<br>599pb                                                       | 3,4,5 :<br>30cycles      |
| NDM<br>Temps                                                     | 5'   | 1'   | 1'   | 1'      | 7'   | pause |                                                                      |                          |
| OXA 23<br>OXA 24<br>OXA 51<br>GES<br>VEB<br>PSE<br>CTXmAB<br>SHV | 94°C | 94°C | 58°C | 72°C    | 72°C | 4°C   | 501pb<br>246pb<br>253pb<br>864pb<br>642pb<br>587pb<br>551pb<br>861pb | 3,4, 5 :<br>30<br>Cycles |
| Temps                                                            | 5'   | 1'   | 1'   | 1'      | 7'   | pause |                                                                      |                          |
| ArmA<br>TEM<br>CTX M'                                            | 94°C | 94°C | 55°C | 72°C    | 72°C | 4°C   | 250 à<br>500<br>867pb<br>544pb                                       | 30<br>Cycles             |
| Temps                                                            | 5'   | 1'   | 1'   | 1' 30'' | 7'   | pause |                                                                      |                          |
| PER                                                              | 94°C | 94°C | 51°C | 72°C    | 72°C | 4°C   | 925pb                                                                | 30<br>cycles             |
| temps                                                            | 5'   | 1'   | 1'   | 1'      | 7'   | pause |                                                                      |                          |

### ANNEXE 7

#### **Protocole de purification des produits de PCR, en vue du séquençage**

- Prendre le KIT(QIAGEN) :-ajouter le même volume de Membrane Bording Solution (47µl +47µl).
- Transférer le tout (94µl) dans la colonne.
- Incuber 5 minutes à Température ambiante.
- Centrifuger 14000 rpm pendant une minute.
- Récupérer, le centrifugat, dans un autre collection tube.
- Jeter le fond.
- Rincer la colonne avec 700µl de M wash solution sur la colonne, centrifuger une 1minute à 14000 rpm.
- Plus 500 µL de MWS centrifuger 5 minutes à 14000 rpm.
- Vider.
- Centrifuger 14000rpm pendant une minute
- Jeter le tube d'en bas, mettre la colonne dans un eppendorff
- Ajouter 30µl d'eau ultra pure, volume final 30µl, incuber 5' ,à température ambiante.
- Centrifuger 14000 rpm pendant une minute.
- La concentration finale doit être à 30ng/µl. Si elle est supérieure, il faudra diluer

Exemple : la souche du Phénotype NDM, est préconisée pour Le séquençage

Après purification des produits de PCR, la concentration retrouvée a donné u 102ng/µl, qu'il faudrait transformer à une concentration de 30ng/µl, en appliquant la relation  $C_1V_1=C_2V_2$  C1 : concentration 102, V1 : volume récupéré à la fin de la purification.

C2 : concentration 30 à obtenir, V2 : Volume final

$$102 \times 30 = 30 \times V_2 \quad V_2 = 102\mu\text{l}, 102 - 30 = 72\mu\text{l}$$

Il faut ajouter 72µl d'eau distillée stérile, au produit de purification, pour atteindre le volume de 102µl.

# ANNEXES

## ANNEXE 8

### Exemple de séquences obtenues pour : $\beta$ -lactamases

> Souche de Phénotype 1' avec l'amorce CTX-M AB : CTX-M-15

>a.n séquence : 531 sur 891 pb

TTTTTgCGAtgtGCAGTACCAGTAAAGTGATgGcCGCGGcCGCGGTGCTGaA  
GaaAAGTGaAAGCGAACCGAATCTGTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAA  
AATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGG  
ACGATGTCACTGGCTGAGCTTAGCGCGGCCGCGCTACAGTACAGCGATA  
ACGTGGCGATGAATAAGCTGATTGCTCACGTTGGCGGGCCCGGCTAGCGT  
CACCGCGTTCGCCCCGACAGCTGGGAGACGAAACGTTCCGTCTCGACCGT  
ACCGAGCCGACGTTAAACACCGCCATTCCGGGCGATCCGCGTGATACCA  
CTTCACCTCGGGCAATGGCGCAAACCTCTGCGGAATCTGACGCTGGGTAA  
AGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCGCAGCTGGTGACATGGATGAAAGG

CAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTGAGGCTGGACTGCCTGCtTCCTGGT

Escherichia coli strain 862 beta-lactamase CTX-M-15 (blaCTX-M-15) gene, complete cds

Sequence ID: [gb|JX129222.1|](#) Length: 891 Number of Matches: 1

Range 1: 220 to 750 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score         | Expect                                                        | Identities    | Gaps      | Strand    |
|---------------|---------------------------------------------------------------|---------------|-----------|-----------|
| 981 bits(531) | 0.0                                                           | 531/531(100%) | 0/531(0%) | Plus/Plus |
| Query 3       | TTTTGCGATGTGCAGTACCAGTAAAGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAA | 62            |           |           |
| Sbjct 220     | TTTTGCGATGTGCAGTACCAGTAAAGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAA | 279           |           |           |
| Query 63      | AGCGAACCGAATCTGTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTAT   | 122           |           |           |
| Sbjct 280     | AGCGAACCGAATCTGTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTAT   | 339           |           |           |
| Query 123     | AATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAGCGCGGCC  | 182           |           |           |
| Sbjct 340     | AATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAGCGCGGCC  | 399           |           |           |
| Query 183     | GCGCTACAGTACAGCGATAACGTGGCGATGAATAAGCTGATTGCTCACGTTGGCGGCCCG  | 242           |           |           |
| Sbjct 400     | GCGCTACAGTACAGCGATAACGTGGCGATGAATAAGCTGATTGCTCACGTTGGCGGCCCG  | 459           |           |           |
| Query 243     | GCTAGCGTCACCGGTTTCGCCCCGACAGCTGGGAGACGAAACGTTCCGTCTCGACCGTACC | 302           |           |           |
| Sbjct 460     | GCTAGCGTCACCGGTTTCGCCCCGACAGCTGGGAGACGAAACGTTCCGTCTCGACCGTACC | 519           |           |           |
| Query 303     | GAGCCGACGTTAAACACCGCCATTCCGGGCGATCCGCGTGATACCACTTCACCTCGGGCA  | 362           |           |           |
| Sbjct 520     | GAGCCGACGTTAAACACCGCCATTCCGGGCGATCCGCGTGATACCACTTCACCTCGGGCA  | 579           |           |           |
| Query 363     | ATGGCGCAAACCTCTGCGGAATCTGACGCTGGGTAAAGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCG | 422           |           |           |
| Sbjct 580     | ATGGCGCAAACCTCTGCGGAATCTGACGCTGGGTAAAGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCG | 639           |           |           |
| Query 423     | CAGCTGGTGACATGGATGAAAGGCAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTGAGGCTGGACTG  | 482           |           |           |
| Sbjct 640     | CAGCTGGTGACATGGATGAAAGGCAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTGAGGCTGGACTG  | 699           |           |           |
| Query 483     | CCTGCTTCCTGGGTTGTGGGGGATAAAACCGGCAGCGGTTGGCTATGGCACC          | 533           |           |           |
| Sbjct 700     | CCTGCTTCCTGGGTTGTGGGGGATAAAACCGGCAGCGGTTGGCTATGGCACC          | 750           |           |           |

## ANNEXES

>a.a séquence :

FAMCSTSKVMAAAVLKKSESEPNLLNQRVEIKKSDLVNYNPIAEKHVNGTM  
SLAELSAAALQYSDNVAMNKLIAHVGGPASVTAFARQLGDETFRLDRTEPTL  
NTAIPGDPRDTTSPRAMAQTLRNLTGKALGDSQRAQLVTWMKGNTTGAAS  
IQAGLPASWVVGDKTGSGGYGTQKKICE

> Souche de Phénotype 6 avec l'amorce NDM F et R : NDM-1

>a.n séquence : 516 sur 813 pb

TTAGTGCTCAGTGTCTGGCATCACCGAGATTGCCGaGCGACTTGGcCTTGC  
TGTCCTTGATCAGGCAGCCACCAAAAGCGATGTCGGTGCCGTCGATCCC  
AACGGTGATATTGTCACTGGTGTGGCCGGGGCCGGGGTAAAATACCTTG  
AGCGGGCCAAAGTTGGGCGCGGTTGCTGGTTCGACCCAGCCATTGGCG  
GCGAAAGTCAGGCTGTGTTGCGCCGCAACCATCCCCTCTTGCGGGGGCAA  
GCTGGTTCGACAACGCATTGGCATAAGTCGCAATCCCCGCCGCATGCAG  
CGCGTCCATACCGCCCATCTTGTCTGATGCGCGTGAGTCACCACCGCC  
AGCGCGACCGGCAGGTTGATCTCCTGCTTGATCCAGTTGAGGATCTGGG  
CGGTCTGGTCATCGGTCCAGGCGGTATCGACCACCAGCACGCGGGCCGC  
CATcCCTGACGATCAAACCGTtGGAAGCGACTgCCCCgAAACCCggCaTGT  
CGAGATAGGAAGTGTGCTGCCAGACAC

>a.a séquence :

VWQHTSYLDMPGFGAVASNGLIVRDGGRVLVVDTAWTDDQTAQILNWIQKE  
INLPVALAV  
VTHAHQDKMGGMDALHAAGIATYANALSNQLAPQEGMVAAQHSLTFAANG  
WVEPATAPNF  
GPLKVFYPPGPGHTSDNITVGIDGTDIAFGGCLIKDSKAKSLGNLGDADTEH-

## ANNEXES

### Chain A, Crystal Structure Of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (Ndm-1)

Sequence ID: [pdb|3S0Z|A](#) Length: 224 Number of Matches: 1

▶ [See 1 more title\(s\)](#)

Range 1: 12 to 182 [GenPept](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score         | Expect                                                       | Method                       | Identities    | Positives     | Gaps      |
|---------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------|---------------|---------------|-----------|
| 353 bits(905) | 3e-121                                                       | Compositional matrix adjust. | 171/171(100%) | 171/171(100%) | 0/171(0%) |
| Query 1       | VWQHTSYLDMPGFGAVASNGLIVRDGGRVLVVDTAWTDDQTAQILNWIQEIINLPVALAV |                              |               |               | 60        |
|               | VWQHTSYLDMPGFGAVASNGLIVRDGGRVLVVDTAWTDDQTAQILNWIQEIINLPVALAV |                              |               |               |           |
| Sbjct 12      | VWQHTSYLDMPGFGAVASNGLIVRDGGRVLVVDTAWTDDQTAQILNWIQEIINLPVALAV |                              |               |               | 71        |
| Query 61      | VTHAHQDKMGGMDALHAAGIATYANALSNQLAPQEGMVAAQHSLTFAANGWVEPATAPNF |                              |               |               | 120       |
|               | VTHAHQDKMGGMDALHAAGIATYANALSNQLAPQEGMVAAQHSLTFAANGWVEPATAPNF |                              |               |               |           |
| Sbjct 72      | VTHAHQDKMGGMDALHAAGIATYANALSNQLAPQEGMVAAQHSLTFAANGWVEPATAPNF |                              |               |               | 131       |
| Query 121     | GPLKVFYFPGPGHTSDNITVGIDGTIDAFGGCLIKDSKAKSLGNLGDADTEH         |                              |               |               | 171       |
|               | GPLKVFYFPGPGHTSDNITVGIDGTIDAFGGCLIKDSKAKSLGNLGDADTEH         |                              |               |               |           |
| Sbjct 132     | GPLKVFYFPGPGHTSDNITVGIDGTIDAFGGCLIKDSKAKSLGNLGDADTEH         |                              |               |               | 182       |

### ANNEXE 9

#### Protocole de la PFGE

Les bactéries sont cultivées jusqu'à l'obtention d'une densité optique comprise entre 0.8 et 1 (à 600 nm).

Un millilitre de cellules est centrifugé, lavé et mis en suspension dans le tampon de suspension préalablement à 50°C.

Les bactéries sont incluses dans un bloc d'agarose à 2% à basse température de fusion.

Les blocs sont incubés pendant 2 h à 37°C dans un tampon de lyse puis incubés dans une solution de protéinase K pendant 16 h à 50°C.

La protéinase K est ensuite éliminée par plusieurs lavages dont un avec une solution de lavage contenant du phénylméthane sulfonyl fluoride (PMSF) à 1 mM (inhibiteur de protéase).

La composition des tampons est présentée ci-dessous

L'ADN total des cellules de *A. baumannii* a été digéré avec l'enzyme de restriction *Apal* pendant 16 h à température ambiante (New England Biolabs, St-Quentin en Yvelines, France).

Les conditions utilisées pour l'électrophorèse sont les suivantes : 6 Volts par centimètre pendant 10 h 30 avec des changements de direction du courant toutes les 3 à 8 secondes et 10 h 30 avec des changements de direction du courant toutes les 12 à 20 secondes.

Après électrophorèse, le gel est coloré au BET (0.5 µg/mL) pendant 30 minutes et les profils génétiques ont été visualisés sous UV.

#### **Composition des solutions utilisées pour l'électrophorèse en champs pulsé.**

##### **Solution Composition**

-Tampon de suspension : 10 mM Tris pH 7.2 ; 20 mM NaCl ; 50 mM EDTA

-Tampon de lyse 10 mM Tris pH 7.2 ; 50 mM NaCl ; 0.2% désoxycholate de sodium ; 0.5% sodium laurylsarcosine ; 50 µg/mL lysosyme

-Tampon de protéinase K 100 mM EDTA pH 8 ; 0.2% désoxycholate de sodium ; 1% sodium laurylsarcosine ; 20 µg/mL protéinase K

-Tampon de lavage 20 mM Tris pH 8 ; 50 mM EDTA

## ANNEXES

### ANNEXE 10

#### Mode opératoire de la technique MLVA (CNR)

Travailler sur des souches, obtenues à partir d'un isolement de 24 heures, sur un milieu gélosé de Muller Hinton

#### Matériel, Réactifs, Consommables :

-Kit d'extraction Qiagen

-Enzyme: BIOTAQ DNA polymérase 5U/μl (Bioline BIO-21040)

-Tampon : NH<sub>4</sub> Buffer 10x, MgCl<sub>2</sub> 50mM, Dntp<sub>s</sub> 2mM, Amorces MLVA, TAE 40X(PROMEGA), 100bp Genladder, colorant de migration (Promega 6X)

Après extraction, il faut doser L'ADN et ajustement à la concentration de 4ng/μl

|                                                      |                        |
|------------------------------------------------------|------------------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> (9 couples d'amorces) |                        |
| <b>3530-60pb-462bp-6U</b>                            | <b>gènes d'ancrage</b> |
| <b>3002-57bp-539bp-8U</b>                            | <b>gènes d'ancrage</b> |
| <b>Acicu2185-99bp-341bp-2U</b>                       | <b>gènes d'ancrage</b> |
| <b>1988-26bp-195bp-5U</b>                            | <b>gènes d'ancrage</b> |
| <b>0826-9bp-532bp-19U</b>                            | <b>gènes d'ancrage</b> |
| <b>0017-9bp-239bp-18U</b>                            | <b>gènes d'ancrage</b> |
| 0845-7bp-136bp-2U                                    |                        |
| 2396-6bp-219bp-19U                                   |                        |
| 3468-6bp-386bp-13U                                   |                        |

L'ADN polymérase doit être diluée extemporanément dans de l'eau de biologie moléculaire (dilution au 1/5<sup>e</sup>) (3μl de Taq +12μl d'eau :soit 1U/μl)

#### Mix et mode opératoire

| Composition du Mix           | Pour un échantillon | Pour 4 échantillons         |
|------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| Primer F                     | 1,5 μl              | 6 μl                        |
| Primer R                     | 1,5 μl              | 6 μl                        |
| My Taq<br>Tampon(Dntp+Mgcl2) | 3 μl                | 12 μl                       |
| EDS                          | 3,8 μl              | 15,2 μl                     |
| My Taq Bioline               | 0,2 μl              | 0,8 μl                      |
| ADN                          | 5 μl                | 5 μl(de chaque échantillon) |

## ANNEXES

---

### Programme du thermocycleur

94°C 5min

94°C 30sec

58°C 30Sec

72°C 1min

72°C 7min

La migration se fait en gel d'agarose à 1%

Remarque : La PCR a été préconisée pour les **gènes d'ancrage** : 3530, 3002, 2185, 1988, 0826. La MLVA a été préconisé, pour les phénotypes Oxacillinases 23.

## Annexe 11

### **Précautions standard, précautions complémentaires de type : PROTECTEUR et ASEPTIQUES**

**Et extraits des directives nationales relatives à l'hygiène de l'environnement  
dans les établissements de santé publics et privés**

#### **I/- Précautions standards**

En permettant de diminuer le risque de transmission croisée, l'objectif de ces précautions est double : assurer la qualité des soins dispensés aux patients et assurer la sécurité des soignants.

**1-L'hygiène des mains** : voir les indications (OMS) ci-dessous et modalités extraites des directives nationales(196).

#### **2-port de gants**

- Port de gant pour tout soignant porteur de lésion cutanée des mains.

#### **3- Port d'un équipement de protection individuelle**

Port d'un tablier, port d'un masque étanche, de lunettes dans les situations avec risque de projection de sang ou de liquide biologique pour les soins souillants et mouillants, pour des patients suspects de pathologies infectieuses (grippe...)

#### **4-Décontamination de l'environnement** : nettoyage/désinfection

- des surfaces et sols souillés, de la vaisselle des patients, du matériel médical, des bassins et pistolets.

**5-Transport des prélèvements biologiques**, du linge souillé de liquides biologiques, des déchets dans un emballage étanche et fermé.

#### **Les précautions Complémentaires sont :**

- à mettre en complément des précautions d'hygiène « standard »
- à mettre en route dès suspicion, en fonction des signes cliniques,
- sur prescription médicale elles sont définies en fonction :
  - de l'agent infectieux (réservoirs, modes de transmission, résistance)
  - de l'infection (localisation et gravité).

Pour *Acinetobacter baumannii* qui est un germe à haut potentiel de transmission croisée, ces précautions doivent être appliquées quand un patient en est infecté..

#### **III/- Précautions complémentaires de type PROTECTEUR**

·Le but est de protéger un patient fragile ou immunodéprimé (en aplasie, neutropénies, greffés, grands brûlés,...) de tout risque infectieux provenant :  
-de l'environnement, ou *Acinetobacter baumannii* est le plus souvent persistant.

-des autres patients, infectés, du personnel et des visiteurs porteurs de ce germe, afin de limiter les risques de transmission croisée.

Les précautions complémentaires de **type PROTECTEUR** sont :

**1-Isolement du patient en chambre seule :**

**2-hygiène des mains à appliquer, par toutes les personnes à l'entrée de la chambre, à renouveler fréquemment.(voir les directives plus bas)**

**3- port d'un masque de soins pour toute personne à l'entrée de la chambre.**

**4- port d'un tablier plastique à usage unique à l'entrée de la chambre.**

**5- faire les soins en premier**

- Regrouper les soins pour limiter les entrées et sorties de la chambre.
- Ne pas rentrer le dossier de soins dans la chambre.
- Individualiser tensiomètre et stéthoscope.

**6- attention à l'alimentation :**

- Eviter fromages à pâte molle, au lait cru.
- Pas d'aliments non cuits.
- Pas de légumes crus, ni fruits qui ne s'épluchent pas.

**7- déplacement**

- à limiter au maximum
- Port d'un masque par le patient

**8-commencer l'entretien :**

Par ces chambres, avec chariot et matériel propre

**9- informer** le patient et les visiteurs des pratiques, les Visiteurs, doivent utiliser une solution hydro-alcoolique et porter un masque avant d'entrer dans la chambre et ne doivent pas s'asseoir sur le lit.

**III/- protection complémentaire SEPTIQUE :** Il faut faire barrière à la diffusion de l'agent infectieux, à partir d'un patient infecté par *Acinetobacter baumannii* et de son environnement immédiat. Cette protection complémentaire comporte :

**1- Chambre individuelle** (si impossibilité, regrouper des patients atteints de la même infection)

**2- Signalisation apposée sur la porte, la planification, le dossier et les bons de demande d'examens, le matériel doit être disposé dans la chambre.**

**3-Port d'un tablier plastique UU (usage unique) ou sur blouse manches longues à Usage Unique.**

**4-Port de gants dès l'entrée dans la chambre.**

**5 -Hygiène des mains** après chaque soin et à la sortie de la chambre.(voir les directives nationales ci-dessous)

**6- SHA (solution hydro-Alcoolique) obligatoire, mais le lavage des mains doit se faire.**

**7- Ne plus toucher l'environnement du patient**

Eliminer le linge souillé au fur et à mesure dans un sac adéquat.

**8-Eliminer les déchets au fur et à mesure dans des sac à déchets à risque infectieux**

### **9. Faire les soins en dernier**

**Regrouper les soins pour limiter les entrées et sorties de la chambre**

**10- Utilisation maximale d'instruments à usage unique ou réservés exclusivement au patient.**

**11- Ne pas stocker de grandes quantités de consommables dans la chambre** (compresses, linges,...)

**12- Organiser l'espace.**

- Limitation des déplacements (risque de transmission lors de transfert entre service ou établissement)
- Faire pansement hermétique en cas de plaie

**13- Nettoyage des surfaces : technique habituelle avec détergent-désinfectant (voir fiche bionettoyage ci-dessous)**

**14- Terminer l'entretien par les chambres en isolement**

**15- A la sortie, réaliser un bionettoyage (3 étapes : détergence, essuyage et désinfection voir les directives ci-dessous)**

**16- Informer le patient et les visiteurs**

- **Visiteurs** : utiliser la SHA (solution hydro-alcoolique) à la sortie de la chambre

- **Ne pas s'asseoir sur le lit**

## Les recommandations de l'OMS combinées en 5 indications de l'hygiène des mains

| Les 5 indications d'hygiène des mains                   | Recommandations consensuelles<br><i>Recommandations de l'OMS pour l'Hygiène des mains au cours des Soins 2009</i>                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Avant de toucher un patient                          | D.a) Avant et après avoir touché un patient (IB)                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 2. Avant un geste aseptique                             | D.b) Avant de manipuler un dispositif médical invasif pour les soins au patient, indépendamment du port de gants (IB)<br>D.d) Passer d'un site corporel contaminé à un autre site corporel lors des soins à un même patient (IB)                                                                      |
| 3. Après un risque d'exposition à un liquide biologique | D.c) Après avoir touché des liquides biologiques ou excréments, des muqueuses, une peau lésée ou un pansement (IA)<br>D.d) Passer d'un site corporel contaminé à un autre site corporel lors des soins à un même patient (IB)<br>D.f) Après avoir retiré des gants stériles (II) ou non stériles (IB) |
| 4. Après avoir touché un patient                        | D.a) Avant et après avoir touché un patient (IB)<br>D.f) Après avoir retiré des gants stériles (II) ou non stériles (IB)                                                                                                                                                                              |
| 5. Après avoir touché l'environnement d'un patient      | D.e) Après avoir touché des surfaces et objets inanimés (matériel médical inclus) à proximité immédiate du patient (IB)<br>D.f) Après avoir retiré des gants stériles (II) ou non stériles (IB)                                                                                                       |

Tableau des correspondances entre les 5 Indications et les Recommandations de l'OMS

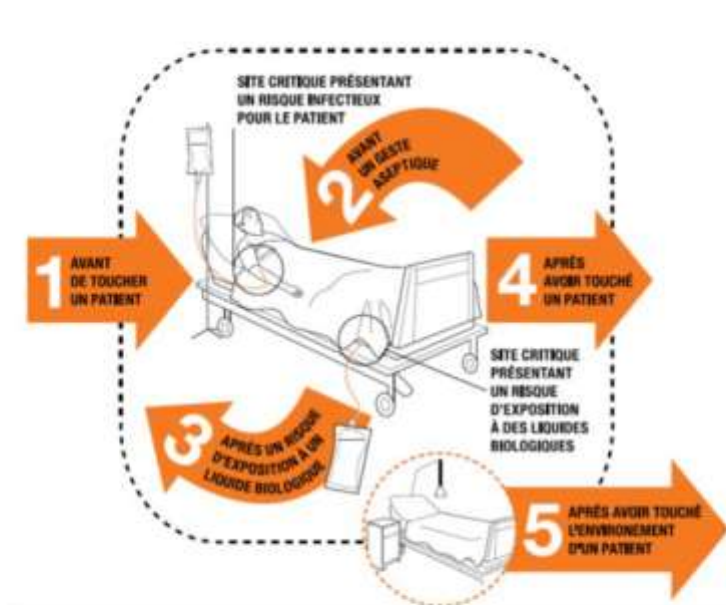


Ministère de la Santé  
Ministère de la Santé  
Ministère de la Santé  
Ministère de la Santé



be

## Les 5 indications de l'hygiène des mains



Ministère de la Santé  
Ministère de la Santé  
Ministère de la Santé  
Ministère de la Santé



be

### EXTRAITS DES DIRECTIVES NATIONALES RELATIVES A L'HYGIENE DE HOSPITALIERE DANS LES ETABLISSEMENTS DE SANTE PUBLICS ET PRIVES (196)

#### HYGIENE DES MAINS

Fiche 4

#### OBJECTIF

Prévenir la dissémination de micro-organismes notamment multi-résistants, à l'origine des infections associées aux soins ; les mains constituant le mode de transmission principal.

#### TECHNIQUE ET MÉTHODE

##### 1. HYGIÈNE DES MAINS : Qui et Comment ?

1. Tous les personnels de la santé et tout professionnel impliqué dans les soins dispensés aux patients.
2. Par lavage à l'eau et au savon et par désinfection par friction avec un produit hydro alcoolique, à adapter selon les risques.

##### 2. LES PRÉALABLES À L'HYGIÈNE DES MAINS

1. Pas de bijoux (bague, bracelet, alliance, montre,....)
2. Pas de vernis
3. Pas de faux ongles
4. Ongles courts
5. Avoir les avant bras découverts

### 3. LE LAVAGE DES MAINS

**Quand se laver :** Le choix du type de lavage approprié dépend du niveau de risque infectieux

#### **3.1- Le lavage simple ou social :**

1. A la prise et à la fin du service.
2. Au cours des gestes de la vie courante : repas, passage aux toilettes, après s'être mouché ou coiffé, ...
3. Avant et après un soin de nursing ou d'hôtellerie.
4. Lors de soins infirmiers non invasifs.
5. Mains visiblement sales et /ou souillées.
6. Après le retrait des gants.

#### **3.2- Le lavage hygiénique ou antiseptique :**

1. Après tout contact avec un patient en isolement septique
2. Avant réalisation d'un geste invasif (cathéter périphérique, sonde urinaire et autres dispositifs analogues)
3. Après tout contact accidentel avec du sang ou des liquides biologiques
4. Après contact avec un patient infecté ou avec son environnement
5. Entre deux patients, après tout geste potentiellement contaminant
6. Avant tout contact avec un patient en isolement protecteur
7. Avant réalisation d'une ponction lombaire, d'ascite, articulaire ou autres situations analogues
8. Avant manipulation des dispositifs intra vasculaires, drains pleuraux, chambre implantable, et autres situations analogues
9. En cas de succession de gestes contaminants pour le même patient



**Le port de gants doit obligatoirement être précédé d'une hygiène des mains**

### 4. LA DÉSINFECTION PAR FRICTION HYDRO ALCOOLIQUE

***Quand se frictionner :***

***La friction hygiénique ou antisepsie rapide des mains :***

1. Ses indications sont celles du lavage hygiénique et du lavage simple à l'exception des situations suivantes : avant la prise du service, après chaque geste sale et après les gestes de la vie courante.
2. Elle est contre-indiquée sur des mains souillées, mouillées et poudrées.  
Elle est inefficace sur les spores (patient porteur de clostridium difficile) et les parasites (gale).

**On lave les mains sales et on désinfecte les mains propres**

### ***Désinfection par friction hydro alcoolique :***

1. Produit hydro alcoolique
2. Distributeur pour produit hydro alcoolique
3. Protocole affiché

### **RESPONSABLE**

- ▶ Tous les personnels de santé : médical, paramédical et autres travailleurs
- ▶ Le directeur de l'établissement
- ▶ Le pharmacien
- ▶ Le CLIN

### BIONETTOYAGE DES SURFACES ET DES SOLS

Fiche 5

#### OBJECTIF

- ▶ Assurer un état de propreté
- ▶ Éviter la transmission croisée des micro-organismes entre patients et soignants par le biais du matériel, des mobiliers et/ou des surfaces.
- ▶ Éviter la contamination de l'environnement
- ▶ Eliminer les salissures adhérentes sur les sols et surfaces
- ▶ Réduire le nombre de micro-organismes présents sur les sols et surfaces.

#### Techniques, méthode

**Nettoyage :** Elimination des souillures et salissures visibles aboutissant à un aspect agréable de propreté, d'hygiène et de confort

**Bio nettoyage :** Opération de nettoyage et de désinfection avec un détergent suivi d'un désinfectant ou d'un détergent-Désinfectant (dD) en une seule opération assurant ainsi une action bactéricide, virucide, fongicide et parfois sporicide. Le bionettoyage permet d'éliminer les salissures et de réduire la contamination biologique des sols et surfaces.

#### Surfaces :

Surfaces verticales : Murs, parois

Surfaces horizontales : Plans de travail, mobilier

#### 1- RECOMMANDATIONS GENERALES

Les recommandations suivantes s'appliquent quelles que soient les techniques d'entretien utilisées et restent valables dans toutes les zones :

- ▶ Porter une tenue vestimentaire propre et adaptée au contexte épidémiologique de la transmission (ex : épidémie Ebola, nécessite de porter un équipement protecteur individuel).
- ▶ Pratiquer une hygiène des mains (lavage simple ou friction hydro-alcoolique) en début et fin des opérations de bionettoyage, et chaque fois que nécessaire. (cf. fiche 4)

### 2- PROCEDURE

1. Aérer la pièce
2. Sortir les déchets, le linge et les dispositifs médicaux utilisés. (cf. fiche 32)
3. Respecter un ordre logique dans le déroulement des opérations :
  - a) commencer par les locaux les moins contaminés,
  - b) aller du propre vers le sale et de haut vers le bas,
  - c) nettoyer toujours avant de désinfecter.
4. Déplacer impérativement le mobilier
5. Laisser le chariot de ménage à l'extérieur de la pièce
6. Porter obligatoirement des "gants de ménage" à manchettes
7. Les gants de ménage réutilisables doivent être :
  - ▶ imperméables et résistants
  - ▶ individuels
  - ▶ nettoyés entre chaque pièce (l'extérieur des gants est nettoyé-désinfecté)
  - ▶ entretenus de l'intérieur et de l'extérieur en fin de journée
8. Vérifier que le matériel est en bon état de fonctionnement et en conformité avec les règles de sécurité.
9. Nettoyer le matériel après son utilisation, le ranger.
10. Toujours nettoyer avant de désinfecter.
11. Tracer l'entretien.

### OBJECTIF

Entretien et désinfecter la chambre du patient et l'équipement qui s'y trouve, pour prévenir le risque d'infections associées aux soins, notamment d'origine manuportée.

### TENUE DE TRAVAIL

- ▷ Porter une tenue de travail (tunique et pantalon) propre et des chaussures (fermées devant et derrière) réservées au travail.
- ▷ Pas de port de bijoux (montre, bagues, bracelets), éviter le vernis à ongles, et attacher les cheveux trop longs.
- ▷ Port de gants adaptés, changés (usage unique) ou désinfectés entre chaque chambre.

### TECHNIQUES ET MÉTHODES

#### Principes généraux

- ▷ Nettoyage après réfection du lit et évacuation des déchets.
- ▷ Nettoyage toujours humide, pratiqué du haut vers le bas, et du plus propre au plus sale : dépoussiérage humide, détergence et désinfection.
- ▷ Changement des chiffonnettes et des solutions de rinçage entre chaque chambre et nettoyage des balais après chaque usage dans une chambre en isolement.
- ▷ A fin du nettoyage, vider et nettoyer les seaux ; Nettoyer le chariot (du haut vers le bas) ; Réapprovisionner le chariot et le ranger dans le local dédié à cet effet avant de pratiquer l'hygiène des mains.

#### Bionettoyage quotidien :

**EQUIPEMENT :** désinfection (lit, dessus de tables et appareillages, ...)

**CHAMBRE ET SAS :** Porte d'entrée de la chambre et poignée ; Rainures des fenêtres ; tableaux muraux (y compris dessus), Partie externe de la porte du cabinet de toilette et poignée ; Porte des placards et poignées ; paillasses,

**CABINET DE TOILETTE :** Lavabo (récure), patère, néon, distributeur de papier, porte-serviette, interrupteur; miroir; distributeur de papier toilette, barre d'appui, sonnette, interrupteur, poubelle, partie interne de la porte du cabinet de toilette et poignée, cuvette des WC (récure), balayette de WC et son support avec changement de la solution détergente-désinfectante;

## ANNEXES

---

**SOLS** : Balayage avec chiffon humide, puis nettoyage au détergent neutre et désinfection au détergent-désinfectant avec un balai applicateur.

**Bionettoyage hebdomadaire ou lors de souillures :**

Entourage des fenêtres, plinthes, bouche d'aération, murs et radiateurs ...

**Bionettoyage après sortie du malade :** Nettoyage approfondi

**EQUIPEMENT** : désinfection (lit, tables, ...)

**CHAMBRE** : dépoussiérage humide étendu (pourtour de fenêtres, radiateur, vitres, plinthes ...) et désinfection (paillasses et supports, murs, portes et poignées,...)

**CABINET DE TOILETTE** : désinfection étendue, avec récurage du lavabo et détartrage de la cuvette des WC.

**SOL** : balayage humide, brossage, raclage et désinfection.

**AERO-DESINFECTION** : si disponible.

## ANNEXES

### ANNEXE 12

CHU DE TIZI-OUZOU

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE –PARASITOLOGIE

#### RAPPORT D'ENQUETE MICROBIOLOGIQUE

06/03/2016

#### Urgences de Chirurgie (salle de réanimation)

| Numéro | Site de prélèvement                                  | avant stérilisation                                                  | après stérilisation au peroxyde d'hydrogène |
|--------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 01     | Lit 4                                                | RAS                                                                  | RAS                                         |
| 02     | Bords du lit 4                                       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                        | RAS                                         |
| 03     | Surface de la seringue électrique et pousse seringue | <i>Acinetobacter baumannii</i> (multirésistant, Imipenème Résistant) | RAS                                         |
| 04     | Source d'oxygène du lit 4                            | RAS                                                                  | RAS                                         |
| 05     | Capteur de la cellule d'oxygène                      | RAS                                                                  | RAS                                         |
| 06     | Filtre du respirateur                                | <i>Acinetobacter baumannii</i> (multirésistant, Imipenème Résistant) | RAS                                         |
| 07     | Source d'aspiration                                  | RAS                                                                  | RAS                                         |
| 08     | Manot d'aspiration                                   | Entérobactérie <i>Staphylococcus aureus</i>                          | RAS                                         |
| 09     | Piège à eau                                          | <i>Acinetobacter baumannii</i> (multirésistant, Imipenème Résistant) | RAS                                         |
| 10     | Chariot de soin                                      | Entérobactérie                                                       | RAS                                         |
| 11     | Alcool chirurgical                                   | RAS                                                                  | RAS                                         |
| 12     | Bocal d'aspiration                                   | RAS                                                                  | RAS                                         |
| 13     | Réanimât                                             | Entérobactérie                                                       | RAS                                         |

## ANNEXES

|    |                                           |                                                                                         |     |
|----|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 14 | Surface des sources                       | <b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>                                                    | RAS |
| 15 | Rideau                                    | RAS                                                                                     | RAS |
| 16 | Moniteur                                  | <b><i>Acinetobacter baumannii</i><br/>(multirésistant,<br/>Imipenème<br/>Résistant)</b> | RAS |
| 17 | Socle du respirateur (lit 2)              | <b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>                                                    | RAS |
| 18 | Humidificateur du respirateur             | RAS                                                                                     | RAS |
| 19 | Source d'humidification du respirateur    | RAS                                                                                     | RAS |
| 20 | Défibrillateur                            | RAS                                                                                     | RAS |
| 21 | Table de survie du lit 1                  | <b><i>Acinetobacter baumannii</i><br/>(multirésistant,<br/>Imipenème<br/>Résistant)</b> | RAS |
| 22 | Distributeur de solution hydro-alcoolique | <b><i>Acinetobacter baumannii</i><br/>(multirésistant,<br/>Imipenème<br/>Résistant)</b> | RAS |
| 23 | Solution hydro-alcoolique                 | RAS                                                                                     | RAS |
| 24 | Lave main                                 | RAS                                                                                     | RAS |
| 25 | Source de savon                           | RAS                                                                                     | RAS |
| 26 | Téléphone                                 | <b>Entérobactérie<br/><i>staphylococcus aureus</i></b>                                  | RAS |
| 27 | Climatiseur                               | RAS                                                                                     | RAS |
| 28 | Para germe                                | <b>Entérobactérie</b>                                                                   | RAS |

### Commentaires et recommandations:

-La présence d'**Entérobactéries** au niveau des sites : table de soin est indicatrice d'une contamination fécale consécutive à un mauvais bio nettoyage et au non respect des règles d'hygiène.

- On a noté également la présence de **germes oxydatifs notamment *Pseudomonas aeruginosa*** au niveau de certains sites, qui sont des germes de l'environnement pouvant devenir pathogènes chez l'immunodéprimé

-De ce fait, un nettoyage cyclique, hebdomadaire et une désinfection terminale sont requis pour ces sites.

-La diffusion d'*Acinetobacter baumannii* multirésistant, aux antibiotiques, notamment à l'imipénème dans des sites « stratégiques » indiquent la diffusion de cette souche à l'état épidémique dans ce service.

**La deuxième, série de prélèvements effectués dans les mêmes sites, après un bionettoyage correct, et la désinfection par diffusion de peroxyde d'hydrogène, a fait disparaître totalement la souche.**

- Il faut effectuer un bionettoyage selon les normes des dispositifs médicaux et aller vers le respect strict des pratiques en hygiène hospitalière personnel médical et paramédical aux urgences médico-chirurgicales (lavage des mains, friction régulière avec la solution hydro-alcoolique des mains,.....)

**Conclusion : un bionettoyage correct ainsi qu'une désinfection au peroxyde d'hydrogène, est arrivé à bout d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* multi-résistante aux antibiotiques qui sévit à l'état endémo-épidémique aux urgences chirurgicales, ces actions doivent être pérennes dans le temps car elles constituent la seule alternative qui permettront la disparition de cette souche de ce service, et du CHU de manière globale.**

**Enquête réalisée par l'équipe de microbiologie :**

-Dr Azzam

-Dr Achir , Dr Boubrit ,Dr Cherifi ,Dr Boutalbi

**Copies:**

-A Mr le Directeur Général

- Au médecin chef du PU de chirurgie

- A la présidente du CLIN

- Archives

# ANNEXES

## ANNEXE 13

### Valeurs critiques des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* sp CLSI

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire)

7<sup>ème</sup> édition 2014

**Table de lecture 3\*** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.

| Antibiotiques testés           | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) |         |      | CMI critiques (µg/ml) |           |        | Commentaires                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------|--------------------|--------------------------|---------|------|-----------------------|-----------|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                |                    | R                        | I       | S    | R                     | I         | S      |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Ticarcilline                   | 75 µg              | ≤ 14                     | 15 - 19 | ≥ 20 | ≥ 128                 | 32-64     | ≤ 16   | Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. (voir recherches complémentaires).<br><br>Les critères d'interprétation pour l'imipénème sont basés sur la posologie de 500 mg toutes les 6h. |
| Ticarcilline + ac.clavulanique | 75/10µg            | ≤ 14                     | 15 - 19 | ≥ 20 | ≥ 128/2               | 32/2-64/2 | ≤ 16/2 |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Pipéracilline                  | 100 µg             | ≤ 17                     | 18 - 20 | ≥ 21 | ≥ 128                 | 32-64     | ≤ 16   |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Céftazidime                    | 30 µg              | ≤ 14                     | 15 - 17 | ≥ 18 | ≥ 32                  | 16        | ≤ 8    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Imipénème                      | 10 µg              | ≤ 18                     | 19 - 21 | ≥ 22 | ≥ 8                   | 4         | ≤ 2    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Amikacine                      | 30 µg              | ≤ 14                     | 15 - 16 | ≥ 17 | ≥ 64                  | 32        | ≤ 16   |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Gentamicine                    | 10 µg              | ≤ 12                     | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 16                  | 8         | ≤ 4    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Tobramycine                    | 10 µg              | ≤ 12                     | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 16                  | 8         | ≤ 4    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Nétilmicine                    | CMI                | ---                      | ---     | ---  | ≥ 32                  | 16        | ≤ 8    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Ciprofloxacine                 | 5µg                | ≤ 15                     | 16 - 20 | ≥ 21 | ≥ 4                   | 2         | ≤ 1    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Lévofloxacine                  | 5µg                | ≤ 13                     | 14 - 16 | ≥ 17 | ≥ 8                   | 4         | ≤ 2    |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Doxycycline                    | 30µg               | ≤ 9                      | 10 - 12 | ≥ 13 | ≥ 16                  | 8         | ≤ 4    | Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline.                                                                                                                                                                                                          |
| Triméthoprim+ sulfaméthoxazole | 1.25/23.75µg       | ≤ 10                     | 11 - 15 | ≥ 16 | ≥ 4/76                | ---       | ≤ 2/38 |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Colistine                      | CMI                | ---                      | ---     | ---  | ≥ 4                   | ---       | ≤ 2    | La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.                                                                                                                                                                                             |

\* Tableau extrait du Document M100 - S24. Vol. 34, n°1. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

## Annexe 14

### Séquences des souches genotypées (recherche de clones) par la technique : séquence Base Typing *bla*<sub>oxa51</sub>

Loading alignment... for sequences gi|1035503933,gi|742999896,gi|94960150,gi|1026942925,gi|1125943898  
Reading indexes 1-5

[Download](#) [GenBankGraphics](#) Next Previous [Descriptions](#)

Acinetobacter baumannii DB64741/05 blaOXA gene for OXA-51 family carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase OXA-94, complete CDS

### Séquences après assemblage

#### > S75-15\_oxa69 TYPE :oxa 94 :souche 3165/2013

```
AGTGAACCGGGCTATAAACTAACTCTATAAAATACCTAATTGTTCTAACTTTTATAAGTAATCTCTTTTCGAAC
AGAGCTAGGTATTCCTTTTTTCATTTCTAAGTTAARGGAGAACGCTACAATATTCCTCATGAGGCTGAACAACCC
ATCCAGTTAACCAGCCTACTTGTGGGTTTACATCCCATCCCCAACCACTTTTTGCGTATATTTTATTTCCATTCTTT
TCTTCTATGAATAGCATGGATTGCACTTCATCTTGGACTTTTTGGCTAAATGGAAGCGTTTTATTAGCTAGCTTG
TAAGCAAACGTGTCCTCTTGCTGAGGAGTAATTTTTAAAGGACCCACCAGCCAAAAATTATCGACTTGGGTACC
GATATCTGCATTGCCATAACCAACACGCTTCACTTCCTTAGACATGAGCTCAAGTCCAATACGACGAGCTAAAT
CTTGATAAACCGGAATAGCGGAAGCTTTCATGGCATCGCCTAGGGTCATGTCCTTTCCATTCTGGGAATAAC
CTTTTTTACCATCCCACTTAAATACTTCTGTGGTGGTTGCCTTATGGTGCTCAAGGCCGATCAAAGCATTAAGC
ATTTTGAAGGTGGAAGCAGGTACATACTCGGTGGAAGCACGAGCAAGATCATTACCATAGCTTTGTTGAGTTT
GGCCTTGTTGGATAACTAAACACCCGTAGTGTGTGCTTCGTTAAATAAATTTTAAATTTCTCTGCTTTTTCATC
AGATTTTGAAGCACTGTGATTTGGATTAGCAGACACTATATAAGGTGAGCAGGCTGAAATAAAAAATAGCGCTT
GTTATAAGTAAGAGTGCTTGA
```

#### > S46-16\_oxa69 type oxa 66 souche 7981/2000

```
TTAAAGCACTCTTACTTATAACAAGCGCTATTTTTATTTAGCCTGCTCACCTTATATAGTGACTGCTAATCCAAA
TCACAGTGCTTCAAATCTGATGACAAAGCAGAGAAAATTAATAATTTATTTAACGAAGCACACACTACGGGT
GTTTTAGTTATCCATCAAGGTCAAACCTCAACAAAGCTATGGTAATGATCTTGCTCGTGCTTCGACCGAGTATGT
ACCTGCTTCGACCTTCAAATGCTTAATGCTTTGATCGGCCTTGAGCACCATAAGGCAACCACCACAGAAGTAT
TTAAATGGGATGGGGAAAAAAGGCTATTTCCAGAATGGGAAAAAGAACATGACCCTAGGCGATGCTATGAAAG
CTTCCGCTATTCCGTTTATCAAGATTTAGCTCGTCGTATTGGACTTGAGCTCATGTCTAAGGAAGTGAAGCGT
GTTGGTTATGGCAATGCAGATATCGGTACCCAAGTCGATAATTTTTGGCTGGTGGGTCTCTAAAAATTACTCC
TCAGCAAGAGGCACAGTTTGCTTACAAGCTAGCTAATAAAACGCTTCATTTAGCCAAAAAGTCCAAGATGAA
GTGCAATCCATGCTATTCATAGAAGAAAAGAATGGAAATAAAATATACGCAAAAAGTGTTGGGGATGGGAT
GTAAACCCACAAGTAGGCTGGTTAACTGGATGGGTGTTTCAGCCTCAAGGGAATATTGTAGCGTTCTCCCTTAA
CTTAGAAATGAAAAAAGGAATACCTAGCTCTGTTGAAAAGAGATTACTTATAAAAGTTTAGAACAATTAGGT
ATTTTATAGAGTTAGTTTATAGCCCGGTTTAC
```

## ANNEXES

---

### > S41-16\_oxa69 type :oxa 371 souche 3874/2000

CTTATGAACATTAAAGCACTCTTACTTATAACAAGCGCTATTTTTATTTTCAGCCTGCTCACCTTATATAGTGA  
CTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAAATCTGATGTAAAAGCAGAGAAAATTAATAATTTATTTAACGAAGCACAC  
ACTACGGGTGTTTTAGTTATCCAACAAGGCCAACTCAACAAAGCTATGGTAATGATCTTGCTCGTGCTTCGAC  
CGAGTATGTACCTGCTTCGACCTTCAAAATGCTTAATGCTTTGATCGGCCTTGAGCACCATAAGGCAACCACCA  
CAGAAGTATTTAAGTGGGATGGTAAAAAAGGTTATTCCCAGAATGGGAAAAGGACATGACCCTAGGCGATG  
CCATGAAAGCTTCCGCTATTCCAGTTTATCAAGATTTAGCTCGTCGTATTGGACTTGAGCTCATGTCTAAGGAA  
GTGAAGCGTGTTGGTTATGGCAATGCAGATATCGGTACCCAAGTCGATAATTTTTGGCTGGTGGGTCCTTTAA  
AAATTACTCCTCAGCAAGAGGCACAGTTTGCTTACAAGCTAGCTAATAAAACGCTTCCATTTAGCCAAAAAGTC  
CAAGATGAAGTGCAATCCATGCTATTCATAGAAGAAAAGAATGGAAACAAAATATACGCAAAAAGTGGTTGG  
GGATGGGATGTAAACCCACAAGTAGGCTGGTAACTGGATGGGTTGTTTCAGCCTCAAGGGAATATTGTAGCG  
TTCTCCCTTAAGTTAGAAATGAAAAAAGGAATACCTAGCTCTGTTCGAAAAGAGATTACTTATAAAAGCTTAGA  
ACAATTAGGTATTTTATAGAGTTAGTTTATAGCCCA

## ANNEXES

### ANNEXE 15

#### Liste des amorces utilisées, leurs séquences et poids moléculaire

| Cible                        | Amorces     | Séquence des amorces           | Taille de l'amplicon (bp) |
|------------------------------|-------------|--------------------------------|---------------------------|
| <i>bla</i> <sub>OXA-51</sub> | OXA51-F1    | GCTCGTGCTTCGACCGAGTA           | 117                       |
|                              | OXA51-R1    | TTTTTGCCCGTCCCACTTAAA          |                           |
|                              | OXA51-probe | FAM- TCGGCCTTGAGCACCATAAGGCA - |                           |
|                              |             | TAMRA                          |                           |
| <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> | OXA23-F1    | TGCTCTAAGCCGCGCAAATA           | 130                       |
|                              | OXA23-R1    | TGACCTTTTCTCGCCCTTCC           |                           |
|                              | OXA23-probe | FAM- GCCCTGATCGGATTGGAGAACCA-  |                           |
|                              |             | TAMRA                          |                           |
| <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> | OXA23-F     | GATCGGATTGGAGAACCAGA           | 501                       |
|                              | OXA23-R     | ATTTCTGACCGCATTTCAT            |                           |
| <i>bla</i> <sub>OXA-24</sub> | OXA24-F     | CAAATGAGATTTTCAAATGGGATGG      | 123                       |
|                              | OXA24-R     | TCCGTCTTGCAAGCTCTTGAT          |                           |
|                              | OXA24-probe | FAM- GGTGAGGCAATGGCATTGTCAGCA- |                           |

## ANNEXES

|                                  |             |                                 |     |
|----------------------------------|-------------|---------------------------------|-----|
| <i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>     | OXA24-F     | ATGAAAAAATTTATACTTCCTATATTCAGC  | 825 |
|                                  | OXA24-R     | TTAAATGATTCCAAGATTTTCTAGC       |     |
| <i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>     | OXA58-F     | CGCAGAGGGGAGAATCGTCT            | 102 |
|                                  | OXA58-R     | TTGCCCATCTGCCTTTTCAA            |     |
|                                  | OXA58-probe | FAM-GGGGAATGGCTGTAGACCCGC-TAMRA |     |
| <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>      | NDM1-F      | GCGCAACACAGCCTGACTTT            | 155 |
|                                  | NDM1-R      | CAGCCACCAAAAGCGATGTC            |     |
|                                  | NDM1-probe  | FAM-CAACCGCGCCCAACTTTGGC-TAMRA  |     |
| <i>bla</i> <sub>NDM-1-like</sub> | NDM-1-F     | 3'-GCGAACACACAGCCTGACTTT-5'     | 813 |
|                                  | NDM-1-R     | 5'-CAGCCACCAAAAGCGATGTC-3'      |     |
| <i>bla</i> <sub>TEM</sub>        | TEM-F       | ATGAGTATTCAACATTTCCGTG          | 840 |
|                                  | TEM-R       | TTACCAATGCTTAATCAGTGAG          |     |

## ANNEXES

|                             |              |                         |      |
|-----------------------------|--------------|-------------------------|------|
| <i>bla<sub>CTX</sub></i>    | CTX-F        | TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA | 544  |
|                             | CTX-R        | CGATATCGTTGGTGGTGCCATA  |      |
| <i>bla<sub>SHV</sub></i>    | SHV-F        | TTTATGGCGTTACCTTTGACC   | 1051 |
|                             | SHV-R        | ATTGTGCGCTTCTTTACTCGC   |      |
| <i>bla<sub>PER</sub></i>    | PER-F        | GTAGTATCAGCCCAATCCCC    | 738  |
|                             | PER-R        | CCAATAAAGGCCGTCCATCA    |      |
| <i>bla<sub>VEB</sub></i>    | VEB-F        | GGAACAACCTTGACGATTGA    | 374  |
|                             | VEB-R        | CCCTGTTTTATGAGCAACAA    |      |
| <i>bla<sub>GES</sub></i>    | GES-F        | GAAAAAGCAGCTCAGATCG     | 579  |
|                             | GES-R        | CAACAACCCAATCTTTAGGA    |      |
| <i>bla<sub>OXA-51</sub></i> | OXA-51-likeF | TAATGCTTTGATCGGCCTTG    | 353  |
|                             | OXA-51-likeR | TGGATTGCACTTCATCTTGG    |      |
| <i>aac(3)-Ia</i>            | aac(3)-Ia-F  | GACATAAGCCTGTTTCGGTT    | 372  |
|                             | aac(3)-Ia-R  | CTCCGAACCTCACGACCGA     |      |

# ANNEXES

|                   |               |                         |     |       |
|-------------------|---------------|-------------------------|-----|-------|
| <i>aac(6')-Ib</i> | aac(6')-Ib-F  | TATGAGTGGCTAAATCGAT     | 395 |       |
|                   | aac(6')-Ib-R  | CCCGCTTTCTCGTAGCA       |     |       |
| <i>aadA</i>       | aadA-F        | CCCAATTTGTGTAGGGCTTA    | 812 |       |
|                   | aadA-R        | TTGTACGGCTCCGCAGTG      |     |       |
| <i>ant(2'')-I</i> | ant(2'')-I -F | GACACAACGCAGGTCACATT    | 524 |       |
|                   | ant(2'')-I -R | CGCATATCGCGACCTGAAAGC   |     |       |
| <i>aph(3')-VI</i> | aph(3')-VI -F | CGGAAACAGCGTTTTAGA      | 716 |       |
|                   | aph(3')-VI -R | TTCTTTTGTTCAGGTC        |     |       |
| <i>armA</i>       | armA-F        | AGGTTGTTTCCATTTCTGAG    | 590 |       |
|                   | armA-R        | TCTCTTCCATTCCCTTCTCC    |     |       |
| <i>rmtA</i>       | rmtA-F        | CTAGCGTCCATCCTTTTCCTC   | 634 |       |
|                   | rmtA-R        | TTTGCTTCCATGCCCTTGCC    |     |       |
| <i>gyrA</i>       | gyrA-F        | AAATCTGCCCCGTGTCGTTGGT  | 344 |       |
|                   | gyrA-R        | GCCATACCTACGGCGATAACC   |     |       |
| <i>qnrA</i>       | qnrA-F        | GATAAAGTTTTTCAGCAAGAGG  | 543 |       |
|                   | qnrA-R        | ATCCAGATCGGCAAAGGTTA    |     |       |
| <i>qnrB</i>       | qnrB-F        | GACAGAAACAGGTTACCGGT    | 469 | (212) |
|                   | qnrB-R        | CAAGACGTTCCAGGAGCAACG   |     |       |
| <i>parC</i>       | parC-F        | ATGAGCGAGCTAGGCTTAAA    | 300 |       |
|                   | parC-R        | TTAAGTTGTCCTTGCCATTCA   |     |       |
| <i>ISAbal</i>     | ISAbal-F      | CATTGGCATTAACTGAGGAGAAA | 451 | (119) |
|                   | ISAbal-R      | TTGGAAATGGGGAAAACGAA    |     |       |

## Résumé

Le but de ce travail était de suivre l'évolution d'une espèce bactérienne responsable d'infections nosocomiales dans notre structure hospitalière, CHU de Tizi-Ouzou sur le plan phylogénique sur quatre ans de 2010 à 2013, c'est-à-dire évaluer si les souches circulantes ont des liens génétiques, et surveiller sa résistance aux familles d'antibiotiques les plus utilisées en thérapeutique  $\beta$ -lactamines, Aminosides et nouvelles Quinolones. Il s'agit de l'espèce *Acinetobacter baumannii*, laquelle a longtemps été considérée comme contaminant de laboratoire.

L'observation de son évolution sur plusieurs années montre que l'apparition et l'installation de cette bactérie au CHU de Tizi-Ouzou s'est faite au détriment d'une autre bactérie de l'environnement hospitalier, *Pseudomonas aeruginosa*.

En effet sur une collection de 128 souches nous avons confirmé la résistance de cette bactérie à des taux dépassant les 60% pour la plupart des molécules, plusieurs mécanismes génétiques de résistances ont été retrouvés, notamment aux  $\beta$ -lactamines, avec mise en évidence de carbapénémases type oxacillinases et prédominance des oxacillinases 23, lesquelles dominent au niveau mondial.

L'étude de la clonalité effectuée par PFGE, et par une nouvelle technique que nous avons lancé pour la première fois en Algérie lors de cette étude qui est la *bla*<sub>oxa51</sub> sequence base typing (*bla*<sub>oxa51</sub> SBT), ont révélé la présence d'au moins trois clones, présentant plusieurs antibiotypes, avec prédominance du clone international 2.

Les moyens thérapeutiques semblent avoir atteint leur limite pour lutter contre *Acinetobacter baumannii*. Seule l'application des bonnes pratiques en hygiène hospitalière peut arrêter sa diffusion et son évolution au CHU de Tizi-Ouzou.

Mots clés : *Acinetobacter baumannii*, carbapénémases, PFGE, Oxacillinases

## SUMMARY

The aim of this work was to follow the evolution of a species responsible for nosocomial infections in our hospital structure, Tizi-Ouzou University Hospital on the phylogenetic level over four years from 2010 to 2013, that is to evaluate if the circulating strains have genetic links, and monitor its resistance to families of antibiotics most used in therapeutic  $\beta$ -lactams, Aminoglycosides and new Quinolones. This species is *Acinetobacter baumannii*, which has long been considered a laboratory contaminant.

The observation of its evolution over several years shows that its appearance and the installation of this bacterium in the Teaching Hospital of Tizi-Ouzou was done to the detriment of another bacterium of the hospital environment, *Pseudomonas aeruginosa*.

Indeed, on a collection of 128 strains we confirmed the resistance of this bacterium at rates exceeding 60% for most molecules, several genetic mechanisms of resistance have been found, notably to the  $\beta$ -lactamines, with demonstration of carbapenemases type oxacillinases and the predominance of oxacillinases 23, which dominate globally.

The study of the clonality carried out by PFGE, and by a new technique that we first launched in Algeria during this study, which is the sequence base typing *bla*<sub>oxa51</sub>, revealed the presence of at least three clones, presenting several antibiotypes, with predominance of the international clone 2.

The therapeutic means seem to have reached their limit to fight *A. baumannii*. Only the application of good practices in hospital hygiene can stop its diffusion and its evolution in our hospital.

Key-words: *A.baumannii*, carbapenemases, PFGE, oxacillinase

AZZAM AMINA (aminaazzams@yahoo.fr)

Faculté de Médecine

Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.