

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN

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

**Département de Biologie**

*Intitulé du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au  
Biomédical et à L'Environnement*

**MEMOIRE**

Présenté par

**Kerd Amina**

**Ghorzi Ferial Souheyla**

*En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER*

**Diplôme de MASTER**

En Microbiologie et contrôle de qualité

**Thème**

Etude de la résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter  
baumannii* au niveau de CHU de Tlemcen

Soutenu le 21/09/2020, devant le jury composé de :

Présidente	Mme Bouali wafaa	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
Encadreuse	Mme Merad boudia Esma	Maître de conférences B	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Ayad amel	Maître de conférences A	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2019/2020**

## **REMERCIEMENTS**

*Nous commençons d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la santé, la volonté et la patience pour avoir produit ce modeste travail.*

*Nous tenons à adresser nos remerciements et notre reconnaissance et nos sincères gratitude à **Mme MERAD BOUDIA ESMA** enseignante à l'université **ABOU BEKR BELKAID** de **TLEMCEN** pour son encadrement, sa confiance, sa disponibilité, ses bons conseils ainsi que pour sa grande contribution à réaliser ce travail.*

*Nous remercions chaleureusement **Mme BOUALI WAFAA** maitre de conférences au département de biologie, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous remercions **Mme AYAD AMEL** maitre assistant à l'université de Tlemcen d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre entière reconnaissance.*

*Ainsi que tout le personnel du «Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à L'Environnement» de l'université Abou BekrBelkaid où a été réalisé ce travail.*

*Nous remercions également de tous nos cœur tous les enseignants qui ont contribué à nos apprentissages. Nous adressons nos sentiments respectueux et reconnaissant pour tout le savoir qu'ils nous ont prodigué.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## DEDICACES



*Du profond de mon cœur ; je dédie à ceux qui me sont chers :*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, Celui qui s'est toujours sacrifié ; et as été à mes côtés pour me soutenir et encourager, pour voir ma réussite, je lui confirme mon attachement et profond respect à toi mon père «**AHMED**» .Quoique je fasse, je ne pourrai jamais te rendre ce que tu as fait pour moi. Que Dieu t'accorde longue vie afin que je puisse à mon tour combler de bonheur. je t'aime.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect ; mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu m'as consenti pour mon instruction et mon bien être ton affection me couvre ta bienveillance me guide et ta présence à mes coté à toujours été ma source de force pour affronter les différentes obstacles à toi ma mère«**MANSOURA**».je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu m'as porté depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagne toujours. Puisse Dieu, le très haut ; t'accorde santé, bonheur et longue vie .Je t'adore.*

*A mes chers frères : **HAKIM, AMINE, BOUCIF** et leur épouses **WASSILA** et **MERJEM** . Vos conseils et encouragements m'ont été toujours d'un grand secours Ces quelques lignes ne sauront exprimer tout l'amour que je vous porte. Puisse que dieu vous procure santé, bonheur, réussite et prospérité que vous méritez.*

*A ma chère sœur : **DJAMILA** et son mari **RACHID**. Merci énormément pour vous soutenir plus que précieux. Merci pour vos grands cœur, vos qualités qui seraient trop longues à énumérer .que dieu vous garde.*

*A mes neveux: **SOHEIB, KAWTER, MIRA, GHOFRAN, LAMER, AHMED, ADEM, ANFEL** que dieux vous garde et vos bénisse.*

*A **Amina**, et ma copine d'enfance, avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à mon binôme travailler, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension .Je te remercie pour tout ce que tu m'as apporté au cours de ces années d'études ma chérie.*

*Ma grande mère ainsi que mes oncles et tantes pour leurs encouragements et toute ma famille sans oublier ma bien aimée **HABIBA**.*

*À mes chères amies et mes collègues et à toute ma promotion de Microbiologie et contrôle de qualité 2019-2020.*

*Et à tous mes proches.*

**Feriel souheyla**





Je dédie cette mémoire à :

*A ma très chère mère Fatíha,*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et la présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différentes obstacles.*

*A mon très cher père Abd el khalek,*

*Tu as toujours été pour moi le père exemplaire, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grace à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité, je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension, ta confiance...ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. J'implore le tout puissant qu'il t'accorde une bonne santé.*

*" Je dédie ce mémoire comme fruits de vous dévouement et de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation."*

*A mon cher frère Mohamed,*

*En gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.*

*A ma chère sœur Halíma et son mari Tarek,*

*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

*A ma chère grande mère mama Safía,*

*Qui n'a jamais cessé de prier pour ma réussite.*

*A mon cher grand père baba sí Mohamed,*

*Que dieu le bénisse avec santé et bien-être.*

*La mémoire de mes grandes parents paternels,*

*Que Dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*A mes neveux Imran, Zakaría, Adam,*

*Vous avez apportés beaucoup de bonheur à notre famille. Je vous aime.*

*A mon cher Chouchou,*

*Tu as toujours m'offre indéfectible soutien, réconfort et patience infinie.*

*A ma chère binôme Ferial,*

*Je te remercie pour ta patience et ton effort durant ce mémoire.*

*A mes oncles et mes tantes,*

*Pour leur aide et encouragement sans cesse.*

*AMINA*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ  
بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾

سورة المجادلة الاية 11

﴿ وَلَقَدْ آتَيْنَا دَاوُودَ وَسُلَيْمَانَ عِلْمًا وَقَالَا الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي فَضَّلَنَا  
عَلَى كَثِيرٍ مِنْ عِبَادِهِ الْمُؤْمِنِينَ ﴾

سورة النمل الاية 15

تعتبر العصيات سالبة الجرام غير المخمرة من مسببات الأمراض الانتهازية المسؤولة بشكل رئيسي عن التهابات المستشفيات. غالباً ما يكون علاج هذه العدوى صعباً، نظراً لمقاومتها الطبيعية والمكتسبة للعديد من المضادات الحيوية.

مكّن تحليل العينات من عزل 32 عضية سالبة الجرام (BGN) منها 18 سلالة تنتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae* بنسبة (56.25%)، بينما (43.75%) أي ما يعني أي 14 سلالة تتوافق مع غير التخمير (BGNnF) (*Pseudomonas aeruginosa* 9 و *Acinetobacter baumannii* 5). تم عزلهم من 4 أقسام: الجراحة والإنعاش والصدمات والطب الباطني في مستشفى جامعة تلمسان. يتم عزل 90% من سلالات *Acinetobacter baumannii* من وحدة العناية المركزة، والموقع الرئيسي للعزل هو عينة القصبة الهوائية و 10% من وحدة الصدمة مع الجرح كموقع للميل.

الكلمات المفتاحية: *A.baumannii* ; مقاومة المضادات الحيوية; المقاومة المتعددة; العدوى.

# Résumé

---

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont des pathogènes opportunistes responsables essentiellement d'infections nosocomiales. Le traitement de ces infections est souvent difficile, de par leur résistance naturelle et acquise à de nombreux antibiotiques.

L'analyse des prélèvements a permis d'isoler 32 bacilles à Gram négatif (BGN) dont 18 souches appartenant à la famille des entérobactéries avec un taux (56,25%), tandis que (43,75%) c'est-à-dire 14 souches correspondent aux non fermentants (BGNnF) (9 *Pseudomonas aeruginosa* et 5 *Acinetobacter baumannii*). Ils ont été isolés à partir de 4 services : chirurgie, réanimation, traumatologie, médecine interne au niveau du CHU de Tlemcen. 90% des souches d'*Acinetobacter baumannii* sont isolées à partir du service de réanimation, le principal site d'isolement est le prélèvement trachéal et 10% du service de traumatologie avec la plaie comme site de prédilection.

**Mots clés** : *Acinetobacter baumannii* ; Infections nosocomiales ; multirésistance ; résistance aux antibiotiques.

# Abstract

---

Non-fermenting Gram-negative bacilli are opportunistic pathogens mainly responsible for nosocomial infections. The treatment of these infections is often difficult, due to their natural and acquired resistance to many antibiotics.

The analysis of the samples made it possible to isolate 32 Gram-negative bacilli (BGN) including 18 strains belonging to the *Enterobacteriaceae* family with a rate (56.25%), while (43.75%) that is to say ie 14 strains correspond to non-fermenting (BGNnF) (9 *Pseudomonas aeruginosa* and 5 *Acinetobacter baumannii*). They were isolated from 4 departments: surgery, resuscitation, trauma, internal medicine at the Tlemcen University Hospital. 90% of *Acinetobacter baumannii* strains are isolated from the intensive care unit, the main site of isolation is the tracheal sample and 10% from the trauma unit with the wound as the preferred site.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*; antibiotics resistance; multiresistance; nosocomials infections.

# TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations .....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	VI
Liste des annexes.....	V
INTRODUCTION.....	1

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre1 : Les antibiotiques

1. Les $\beta$ -lactamines.....	2
1.1. Classification des $\beta$ -lactamines.....	3
1.1.1. Les pénicillines.....	3
1.1.2. Les céphalosporines.....	4
1.1.3. Les carbapénèmes .....	5
1.1.4. Les monobactames.....	5
1.1.5. Les inhibiteurs de $\beta$ -lactamases.....	6
1.2. La paroi et le mode d'action des $\beta$ -lactamines.....	7
2. Les aminosides.....	8
2.1. Classification des aminosides.....	8
2.2. Mode d'action des aminosides.....	9
3. Les fluoroquinolones .....	9
3.1. Classification des fluoroquinolones.....	10
3.2. Mode d'action des fluoroquinolones.....	10
4. La colistine.....	11
4.1. Mode d'action de la colistine .....	12

**Chapitre2 : Le genre *Acinetobacter***

1. Historique-taxonomie.....	13
2. habitat et classification.....	14
3. Caractéristiques bactériologiques du genre <i>Acinetobacter</i> .....	16
3.1. Morphologie et structure.....	16
3.2. Caractéristiques culturaux.....	16
3.3. Caractéristiques biochimiques.....	16
4. pouvoir pathogène .....	17
5. Épidémiologie d' <i>A. Baumannii</i> .....	17
6. Facteurs de virulence d' <i>Acinetobacter</i> .....	17

**Chapitre3 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii***

1. Résistance naturelle.....	19
2. Résistance acquise aux $\beta$ -lactamines.....	20
2.1. $\beta$ -lactamase de classe A et $\beta$ LSE .....	22
2.2. $\beta$ -lactamase de classe C.....	23
2.3. Résistance acquise aux carbapénèmes .....	23
2.4. Les $\beta$ -lactamases de Classe B .....	24
2.5. Les $\beta$ –lactamases de Classe D .....	24
2.6. Diminution de la perméabilité membranaire.....	25
2.7. Les pompes efflux.....	25
2.8. Modification de PLPs .....	26
3. Résistance aux aminosides .....	26
4. Résistance aux fluoroquinolones.....	26
5. Résistance aux polymyxines.....	27

**DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

**1. Matériel**

1.1. Lieu d'étude.....28

1.2. Milieux de culture .....28

1.3. Tests biochimiques.....28

1.4. Réactifs.....28

**2. Méthode**

2.1. Prélèvement .....29

2.2. Ensemencement .....30

2.3. Isolement et Purification.....30

2.4. Identification .....30

2.4.1. Techniques.....30

2.4.1.1. Teste d'oxydase.....30

2.4.1.2. Galerie API 20<sup>E</sup>.....30

2.4.1.3. Conservation des souches .....32

2.4.1.4. L'antibiogramme.....32

**TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION**

**1. Résultat**

1.1. Prélèvement.....34

1.2. Souches identifiées.....34

1.2.1. Répartition d'*Acinetobacter baumannii* en fonction du site de prélèvement.....36

1.3. Identification d'*Acinetobacter baumannii*.....36

**2. discussion.....37**

**CONCLUSION .....41**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....42**

---

**ANNEXES.....51**

## Liste des abréviations

- AAC** : Aminoglycosides acétyltransférases
- AARN** : Algerian Antimicrobial Resistance Network
- ABC** : ATP-binding cassette
- ADC** : Acinetobacter derived cephalosporinase
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AME** : Aminoglycoside modifying enzyme
- ANT** : Aminoglycosides nucléotidyltransférases
- APH** : Aminoglycosides phospho transférases
- ARN** : Acide ribonucléique
- ATB** : Antibiotique
- BGN** : Bacille à Gram négatif
- bla** : Gène codant une  $\beta$ -lactamase
- $\beta$ LSE** :  $\beta$ -Lactamase à Spectre Etendu
- CHDL** : Carbapenem hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase
- CHU** : Centre Hospitalier Universitaire
- EDTA** : Acide éthylène diamine tétra acétique
- ESAC** : Extended spectrum cephalosporinas
- gen.sp** : Genomspecies ou espèces génomiques
- HMP-AB** : Heat- modifiable protein
- LPS** : Lipopolysaccharide
- MATE** : Multidrug and toxic compound extrusion
- MBL** : Metallo- $\beta$ -lactamases
- MDR** : Multidrug resistant (Multirésistant aux médicaments)
- MLS** : Macrolides Lincosamides Streptogramines

**NP** : Non précisé

**OMP** : Outer membrane protein

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**OXA** : Oxacillinase

**PLP** : Protéines liant la pénicilline

**QRDR** : Quinolone resistance determining region

**RND** : Resistance nodulation cell division

**SMR** : Staphylococcal multi résistance

**SDR** : Specific drug-resistance

## Liste des figures

<b>Figure 01.</b> Principales structures des $\beta$ -lactamines.....	2
<b>Figure 02.</b> Le noyau $\beta$ -lactame.....	3
<b>Figure 03.</b> Structure générale d'une pénicilline.....	4
<b>Figure 04.</b> Structure générale d'une céphalosporine.....	5
<b>Figure 05.</b> Structure générale des carbapénèmes.....	5
<b>Figure 06.</b> Structure générale des monobactames.....	6
<b>Figure 07.</b> Structure des inhibiteurs de $\beta$ -lactamases.....	6
<b>Figure 08.</b> Mode d'action des bêta-lactamases chez les bactéries à gram négatif.....	7
<b>Figure 09.</b> Structure générale d'un aminoside.....	8
<b>Figure 10.</b> Structure générale d'un fluoroquinolone.....	9
<b>Figure 11.</b> Principales structures des quinolones.....	11
<b>Figure 12.</b> Structure principale de la colistine.....	11
<b>Figure 13.</b> Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	20
<b>Figure 14.</b> Des prélèvements écouvillonnage, urinaire et trachéale dans des tubes stériles contenant 5 ml de bouillon nutritif (photo originale).....	29
<b>Figure 15.</b> Répartition des prélèvements selon les services.....	34
<b>Figure 16.</b> Répartition des bacilles à Gram négatif à partir des prélèvements.....	34
<b>Figure 17.</b> Taux des différentes espèces sur l'ensemble des BGN.....	35
<b>Figure 18.</b> Répartition des bacilles à gram négatifs non fermentaire .....	35
<b>Figure 19.</b> La répartition d' <i>Acinetobacter baumannii</i> selon les prélèvements.....	36
<b>Figure 20.</b> Plaque API 20E <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification du genre <i>Acinetobacter</i> .....	<b>14</b>
<b>Tableau 2.</b> Classification de Bush et Jacoby et correspondance avec la classification structurale d'Amblar .....	<b>21</b>
<b>Tableau 3.</b> Répartition des prélèvements selon les services .....	<b>29</b>

## **LISTE DES ANNEXES**

<b>Annexe 1.</b> Tableau de lecture de la Galerie API 20 <sup>E</sup> .....	<b>51</b>
<b>Annexe 2.</b> Tableau d'identification du catalogue analytique API 20 <sup>E</sup> .....	<b>52</b>
<b>Annexe 3.</b> Tableau de diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour <i>Acinetobacter baumannii</i> (CASFM, 2018) .....	<b>53</b>

# *Introducción*

Les infections nosocomiales aussi appelées « infections hospitalières » sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission du patient « lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire » (OMS: **Prévention des infections nosocomiales, 2002**).

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. Cette bactérie était plus souvent considérée comme un contaminant des prélèvements bactériologiques que comme agent responsable d'infections. Le genre actuel *Acinetobacter* comprend une trentaine d'espèces parmi lesquelles *A. baumannii* est la plus représentée en bactériologie clinique (Decré, 2012).

*Acinetobacter baumannii* se présente comme des bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, non fermentaire, opportuniste associée à des infections nosocomiales et communautaires, notamment chez les patients immunodéprimés (Kempf et Rolain, 2012; McConnell *et al.*, 2013). Ces infections associées aux soins de santé, y compris: les bactériémies, les infections des voies urinaires et les méningites secondaires, ainsi, il est constamment impliqué dans la pneumonie hospitalière, et dans les unités de soins intensifs (Sayehmiri *et al.*, 2017).

La multirésistance chez les souches d'*A.baumannii* isolées au niveau des hôpitaux est un phénomène de plus en plus remarquable avec le nombre important de mécanismes pouvant être incriminés dans la résistance aux  $\beta$ -lactamines, particulièrement la résistance aux carbapénèmes (Bentara et Abdelli, 2015).

L'objectif de cette étude est de déterminer la fréquence d'isolement et de caractériser le profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux différents antibiotiques, isolés à partir de 4 Services : médecine interne, traumatologie, réanimation et service de chirurgie au niveau du CHU de Tlemcen.

*Partie I :*  
*Synthèse*  
*bibliographique*

## Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance naturelle d'origine biologique, c'est à dire produite par un organisme vivant ou substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (Allag, 2018).

### 1. Les $\beta$ -lactamines

Les bêta-lactamines sont des composés naturels à activité antibiotique produits à l'origine par certaines espèces bactériennes et fongiques (Brakhage, AlAbdallah *et al.*, 2005). La famille des  $\beta$ -lactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence d'un cycle  $\beta$ -lactame indispensable à l'activité antibiotique (Figure 1), une faible toxicité, associée à un mode d'action fort complexe sur des protéines de la membrane cytoplasmique, dénommées protéines liant la pénicilline (PLP) ou penicillin binding proteins (Cavallo *et al.*, 2004). Il s'agit d'une large famille d'antibiotiques composée de plusieurs sous-classes parmi lesquelles les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les carbapénèmes, les monobactames et les inhibiteurs de bêta-lactamase, qui ne sont pas des antibiotiques au sens strict du terme mais plutôt des composés permettant d'inhiber certains mécanismes de résistance (Bryskier, 1999).

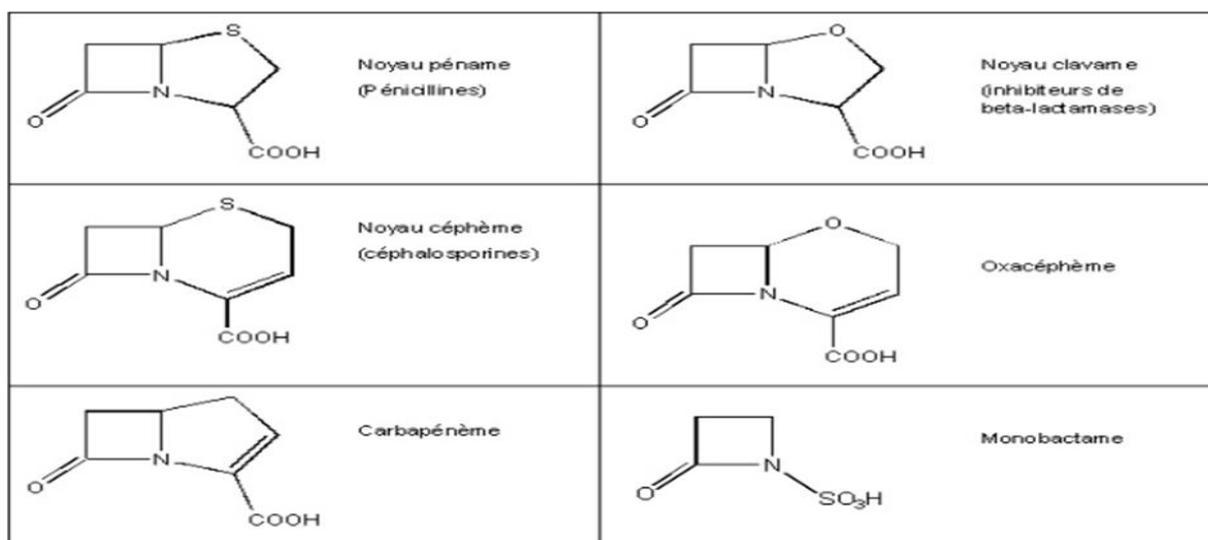


Figure 01. Principales structures des  $\beta$ -lactamines

## 1.1. Classification des $\beta$ -lactamines

La majorité des  $\beta$ -lactamines, dont le représentant le plus ancien est la pénicilline G, sont maintenant obtenues par hémisynthèse. Les  $\beta$ -lactamines, qu'elles soient naturelles ou produites par hémisynthèse, sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans leur structure de base (Soussy, 2000). La base commune à toutes les  $\beta$ -lactamines est le noyau azétidinone, qui contient la structure carbonyle lactame indispensable pour l'activité de ces molécules (Bryskier, 1999). À partir de cette structure, cinq groupes ont été développés par adjonction d'un cycle latéral: les pénames, les céphèmes, les pénèmes, les monobactames et les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (Cavallo *et al.*, 2004).

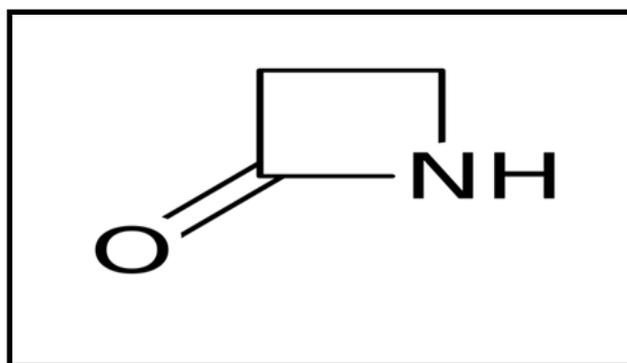


Figure 02. Le noyau  $\beta$ -lactame

### 1.1.1. Pénames (Pénicillines)

Il s'agit d'une vaste famille de produits ayant en commun le noyau péname qui est caractérisé par un penta cycle saturé associé au noyau  $\beta$ -lactame. Les produits de ce groupe se distinguent par la nature du radical fixé sur le carbone en position 6 (R6) (Cavallo *et al.*, 2004).

Les pénames sont dérivées de l'acide amino-6-pénicillanique. Selon la nature de ses différents substituants, plusieurs sous-classes sont définies, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline), les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam) (Ruppé, 2010).

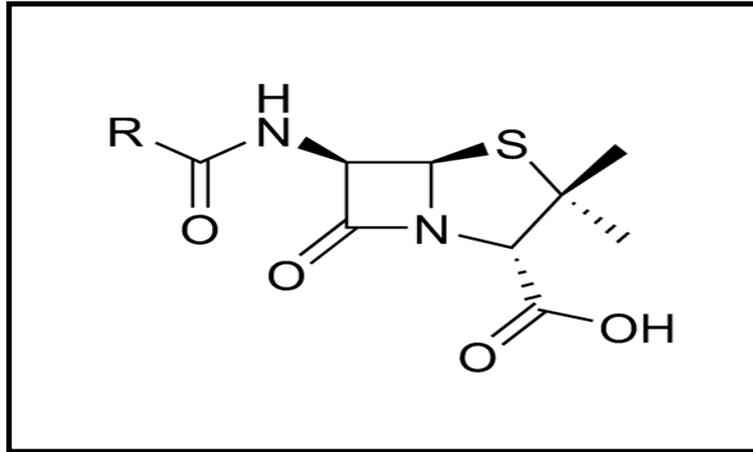


Figure 03. Structure générale d'une pénicilline

### 1.1.2. Les céphalosporines

Le noyau central céphème associe un cycle b-lactame à un cycle dihydrothiazine (en position 1 on trouve un atome de soufre). Les substitutions du radical R1 en position 7 (Aminothiazol céphalosporines) modifient les propriétés antibactériennes et la stabilité de la molécule. Les substitutions du radical R2 en position 3 (méthyl-thiotétrazole, que l'on retrouve par exemple avec la céfopérazone) concernent essentiellement les propriétés pharmacocinétiques de la molécule tout en pouvant renforcer les propriétés antibactériennes (cavallo *et al.*, 2004). Il existe quatre générations de céphalosporine classées en fonction de leur date d'apparition :

- Céphalosporine de première génération (G1C): sont plus efficaces contre les cocci à Gram positif et quelques bacilles à Gram négatif, exemple: Céfaclor, Céfadroxil, Céfalotine.
- Céphalosporine de deuxième génération (G2C): résistent contre les bêta-lactamase, caractérisées par un large spectre d'action et une bonne diffusion tissulaire exemple: Céfoxitine, Céfuroxime.
- Céphalosporine de troisième génération (G3C): sont très utiles contre de grave infection nosocomiales et plus stable contre les enzymes inactivant les bêta-lactamines les principales molécules utilisées: Céfotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone, Céfixime (Buxeraud et Faure, 2016).
- Céphalosporine de quatrième génération (G4C): sont très actives sur les entérobactéries, et très efficace contre les bactéries à gram négatif possèdent une

grande affinité sur les protéines liant les pénicillines exemple: Céfipime, Céfpirome (Ruppé., 2010).

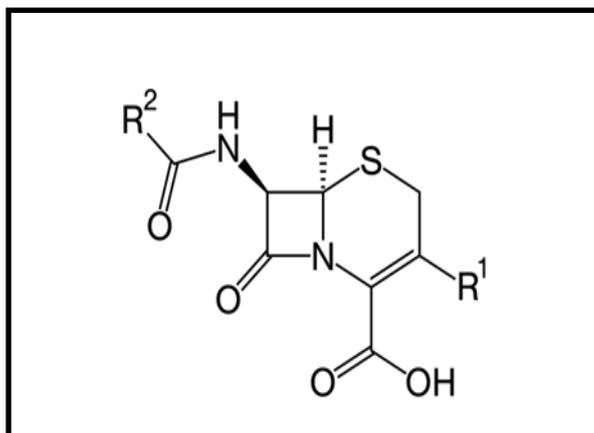


Figure 04. Structure générale d'une céphalosporine

### 1.1.3. Les carbapénèmes

Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines possédant un très large spectre d'activité et une grande stabilité envers la totalité des  $\beta$ -lactamases. Trois molécules sont disponibles en clinique: l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème (Zhanel *et al.*, 2005). Les carbapénèmes, le doripénème présente une meilleure activité sur les bacilles à Gram négatif et particulièrement sur les aérobies stricts (Zahar *et al.*, 2010).

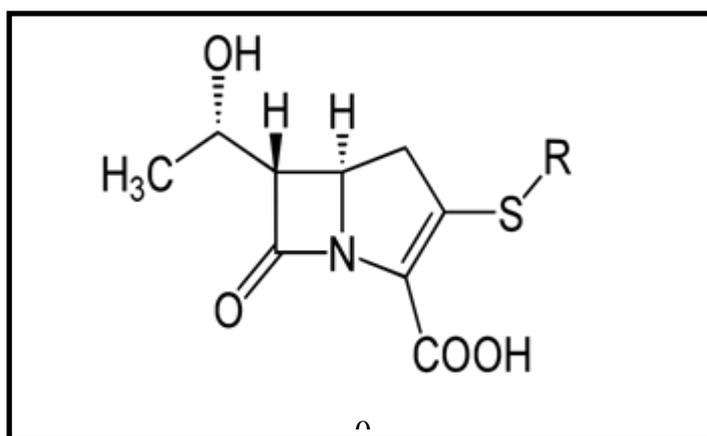


Figure 05. Structure générale des carbapénèmes

### 1.1.4. Les monobactames

Cette sous-classe de bêta-lactamine monocyclique n'est composée que d'un seul agent commercialisé et réservé à la médecine humaine : l'aztréonam. (Ruppé., 2010). Il montre une très bonne activité contre les bactéries à Gram négatif aérobies tel que l'espèce *P.aeruginosa*

et plus particulièrement contre les entérobactéries. Les monobactames se caractérisent par une activité comparable à celle des céphalosporines de troisième génération comme la ceftazidime, en raison de sa bonne stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases (**Cavallo et al., 2004**).

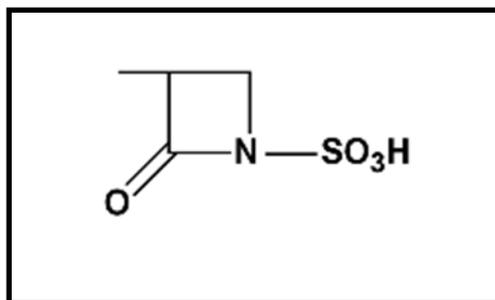


Figure 06. Structure générale des monobactames

#### 1.1.5. Les inhibiteurs de $\beta$ -lactamases

Les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases ont une faible activité antibactérienne intrinsèque. Il s'agit de l'acide clavulanique (clavame ou oxapénème), sulbactam et tazobactam (pénicillines sulfones) (**cavallo et al., 2004**). En effet, l'association de l'acide clavulanique et l'amoxicilline sont utilisés dans l'Augmentin et la ticarcilline dans le Claventin, alors que le tazobactam est utilisé avec la pipéracilline dans la Tazocilline. Le spectre d'inhibition de ces molécules est limité aux pénicillinases (**Ruppé, 2010**).

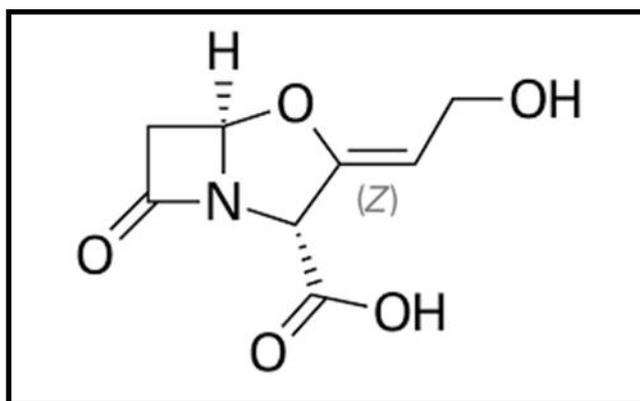


Figure 07. Structure des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases

## 1.2. La paroi et le mode d'action des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines sont des molécules cycliques qui interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane, polymère majeur de la paroi bactérienne, par inactivation des PLPs (Cavallo *et al.*, 2004). Chez les bactéries à Gram négatif, les  $\beta$ -lactamines doivent traverser la membrane externe pour atteindre leurs cibles. Cette membrane agit comme une barrière hydrophobe et les  $\beta$ -lactamines, qui sont le plus souvent des molécules hydrophiles, vont traverser cette barrière essentiellement par la voie des porines. Après avoir traversées la membrane externe des bactéries à Gram négatif, les  $\beta$ -lactamines diffusent facilement à travers le peptidoglycane, se trouvant ensuite dans l'espace périplasmique (Cavallo *et al.*, 2004). Les  $\beta$ -lactamines présentent une analogie structurale entre leur noyau  $\beta$ -lactame et le dipeptide terminal D-alanine-D-alanine du pentapeptide constitutif du peptidoglycane, qui constitue le substrat naturel des PLPs. La fixation du cycle  $\beta$ -lactame sur le site actif des PLPs aboutit à la formation d'un complexe pénicilloyl-enzyme covalent provoquant l'inactivation de ces enzymes, l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane et enfin l'arrêt de la croissance bactérienne (Livermore, 1995).

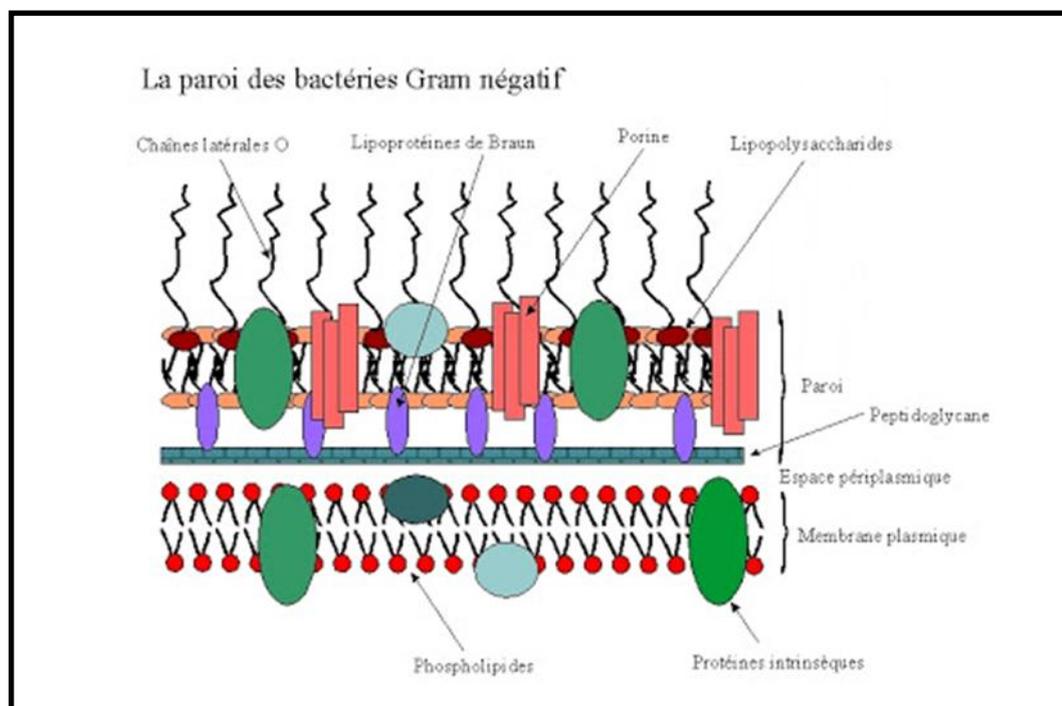


Figure 08. Mode d'action des bêta-lactamases chez les bactéries à gram négatif

## 2. les aminosides

Les aminosides sont une catégorie d'antibiotiques bactéricides réservés à des infections généralement sévères. Ce sont des hétérosides naturels ou hémisynthétiques (**Gaudy et al., 2005., Faure, 2005**). Ils sont utilisés en thérapeutique depuis la découverte de la streptomycine par Waksman et ses collaborateurs en 1944 (**Bryskier, 1999**). Ces antibiotiques continuent à jouer un rôle important dans le traitement des infections sévères dues aux pathogènes à Gram négatif souvent en association avec les  $\beta$ -lactamines à très Large spectre (**Magnet et al., 2005**).

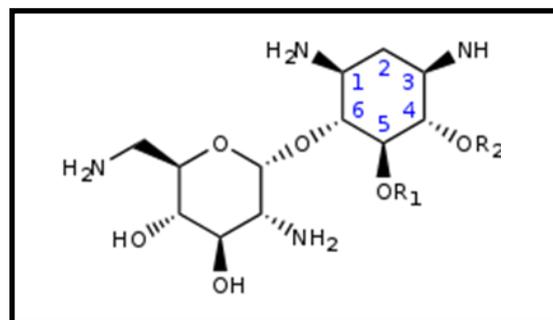


Figure 09. Structure générale d'un aminoside

### 2.1. Classification des aminosides

Les aminosides ou bien aminoglycosides sont des molécules hydrophiles, basiques et polycationiques. Leur structure de base possède un cycle central aminocyclitol saturé, relié par des liaisons glycosidiques à deux ou trois hexoses (**Vakulenko et Mobashery, 2003**).

Ils sont séparés en trois catégories :

1. Les désoxystreptamines bisubstituées 4-5 qui comprennent: Néomycine B ou C, Paromomycine, Lividomycine A ou B, Ribostamycine, Framycétine.
2. Les désoxystreptamines bisubstituées 4-6 qui comprennent: Kanamycines A, B, C et dérivés, Amikacine, Tobramycine, Dibékacine, Gentamicine, Sisomycine, Nétilmicine.
3. Les autres : Streptomycine, Streptidine, Spectinomycine (**Ezaitouni et al., 1999**).

## 2.2. Mode d'action des aminosides

Le principal mécanisme d'action des aminosides est une altération de la synthèse protéique des bactéries, soit par inhibition de la traduction, aux stades d'initiation, d'Elongation ou de translocation, soit par l'induction d'erreurs de traduction (incorporation d'acides aminés erronés dans les protéines). Les aminosides peuvent en outre s'accumuler de façon irréversible dans la cellule bactérienne, modifier la membrane cytoplasmique, altérer la synthèse de l'ADN ou dégrader l'ARN, ou encore provoquer des désordres ioniques importants dans la cellule bactérienne (T. LAMBER, 1997).

Les AME (Aminoglycoside modifying enzyme) sont le plus important mécanisme de résistance aux aminosides. Ils sont représentés par 3 familles d'enzymes: les aminoglycosides acétyltransférases (AAC), Les aminoglycosides nucléotidyltransférases (ANT) et les aminoglycosides phospho transférases (APH) (Ramirez *et al.*, 2010).

## 3. Les fluoroquinolones

L'avènement des fluoroquinolones dans les années 1980 a représenté un espoir digne de celui des premiers antibiotiques dans les années 1940 (Van *et al.*, 2005). Les Fluoroquinolones sont des antibiotiques bactéricides, un large spectre d'activité (Hooper et Rubinstein, 2003). Ils sont caractérisés par la présence d'une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3, un carbonyle en position 4 et d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté (Soussy, 2006).

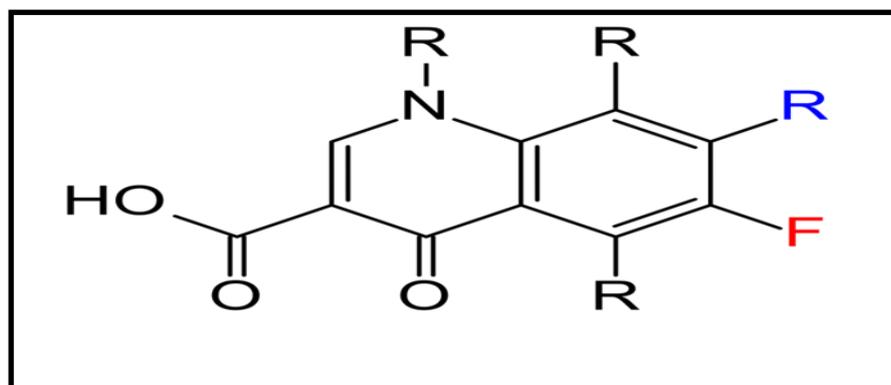


Figure 10. Structure générale d'un fluoroquinolone

### 3.1. Classification des fluoroquinolones

La première génération de quinolones est représentée par l'acide nalidixique, première quinolone, découverte en 1962. La deuxième génération de quinolones, communément appelées fluoroquinolones, est apparue dans les années 1980. Elle est caractérisée par un plus grand spectre d'action et une meilleure biodisponibilité. Ces caractéristiques sont en partie liées à la présence d'un atome de fluor en position 6, d'où leur appellation commune. On retrouve dans cette classe, la péfloxacin, la norfloxacin, l'ofloxacin et son dérivé lévogyre, la lévofloxacin, la ciprofloxacin, la loméfloxacin, la sparfloxacin.

La troisième génération est caractérisée biologiquement par une meilleure couverture de spectre (en particulier les *streptocoques*, peu sensibles aux fluoroquinolones), ces différences d'activité étant probablement liées à la présence d'un groupe méthoxy en position 8, et d'un cycle aromatique en position 7. On retrouve dans cette classe la travofloxacin, la gemifloxacin, et ce qui nous intéresse en ophtalmologie, la gatifloxacin et la moxifloxacin. La quatrième génération, combine les caractéristiques des deuxième et troisième générations. Le seul représentant est actuellement la garenoxacin (**Van et al., 2005**).

### 3.2. Mode d'action des fluoroquinolones

Les quinolones agissent en bloquant la réplication bactérienne par inhibition de la synthèse d'ADN bactérien. Elles ont deux cibles, enzymatiques : l'ADN gyrase (cible préférentielle chez les bactéries à gram négatif) et la topoisomérase IV (cible préférentielle chez les bactéries à gram positif). Ce sont des antibiotiques bactéricides et concentration –dépendants vis –à-vis des bactéries Gram négatif (**Charalabopoulos et al., 2003**).

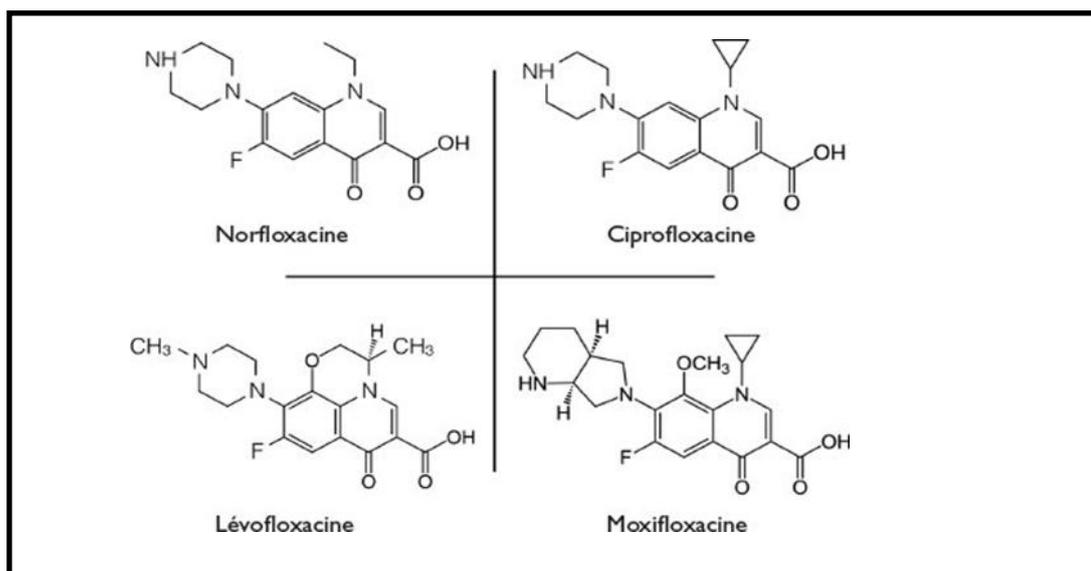


Figure 11. Principales structures des quinolones

#### 4. 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* (Kipnis *et al.*, 2010). Les polymyxines sont des antibiotiques naturellement produits par différentes espèces de *Paenibacillus* (*Bacillus*) *polymyxa*. Cinq classes chimiques (A, B, C, D et E) sont décrites, mais seuls deux composés sont utilisés en thérapeutique : la polymyxine A et E (ou colistine) (Hancock, 1997).

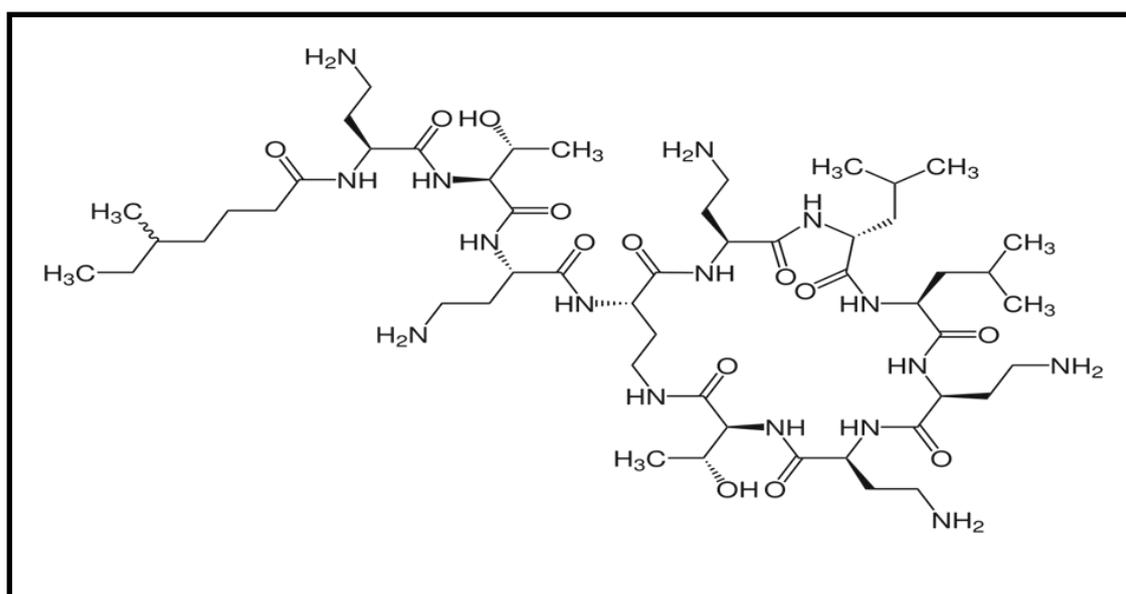


Figure 12. Structure principale de la colistine

#### **4.1. Mode d'action de la colistine**

La cible des polymyxines est le lipopolysaccharide (LPS) bactérien, composant de la membrane externe des bacilles à Gram négatif (**Hancock, 1997**). 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 (bacille à Gram négatif) grâce aux interactions entre charges cationiques des groupements amines et charges anioniques du LPS, puis grâce aux propriétés hydrophobes de l'acide gras. Cette interposition entraîne perméation, fuite du contenu cytoplasmique, puis rupture membranaire cytoplasmique bactérienne et mort du pathogène (**Kipnis et al., 2010**).

## 1. Historique –taxonomie

En 1911, La découverte du genre *Acinetobacter* a débuté par le microbiologiste néerlandais Beijerinck d'un microorganisme nommé *Micrococcus calcoaceticus* à partir de prélèvement de sol d'un milieu minimal de calcium-acétate (**Beijerinck, 1911**). Schaub et Hauber en 1948, redécouvrent cette bactérie à partir d'échantillons du système urinaire humain (**Schaub et Hauber, 1948**). En 1954, Brisou et Prevot ont poursuivi la caractérisation de cette souche, ainsi que le nom *Acinetobacter* a été proposé par Baumann en 1968 (**Baumann et al., 1968**) pour séparer les bactéries immobiles des bactéries mobiles du genre *Achromobacter* (**Brisou et Prevot, 1954 ; Baumann et al., 1968**). En 1984, le genre *Acinetobacter* a été officiellement entré dans la taxonomie mondiale par apparition sur la liste approuvée des espèces bactériennes (Approved Lists of Bacterial Names) et dans le manuel Bergey's de Bactériologie systématique (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) (**Jung et Park, 2015**). Cependant, une description détaillée des espèces appartenant à ce genre n'a pas été fourni. Jusqu'en 1986, seules deux espèces ont été dénommées, *Acinetobacter calcoaceticus* pour les souches oxydant le glucose et *Acinetobacter lwoffii* pour les souches n'oxydant pas le glucose (**Jung et Park, 2015; Seifert et Dijkshoorn, 2008**).

La taxonomie des *Acinetobacter* a été ambiguë en raison d'un manque de marqueurs biochimiques prouvés pour distinguer les souches bactériennes, et ils sont restés sur les espèces génomiques. Le nom d'une espèce génomique dérive du nom de l'auteur (par exemple, *Acinetobacter* espèces génomiques 13TU proposées par T-Jernberg et U rsing) (**Nemec et al., 2010 , 2011** ). le complexe *A.calcoaceticus-A.baumannii* (Acb) comprend 6 espèces phénotypiquement très proches: *A.baumannii*, *A.pittii*, *A.nosocomialis* et *A.calcoaceticus* (**Chan et al., 2012**) ainsi que les nouvelles espèces et *A.seifertii* et *A.dijkshoorniae* (**Cosgaya et al., 2016; Nemec et al., 2015**). Ainsi la classification taxonomique est donnée comme; Domaine: Bactéries, Phylum: *Proteobacteria*, Classe: *Gamma Proteobacteria*, Ordre: *Pseudomonadales*, Famille: *Moraxellaceae*, Genre: *Acinetobacter*. Les espèces *A.baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus* et *A.calcoaceticus* sont d'importance clinique (**Jung et Park, 2015**).

## 2) Habitat et classification

*Acinetobacter* est un ensemble hétérogène d'organismes qui sont généralement des saprophytes vivant en liberté, rencontrés presque partout, généralement distribués dans l'environnement. Cependant, différentes espèces du genre sont généralement associées à plusieurs habitats, par exemple sol, eau, eaux usées, humains, aliments et animaux (**Kurcik-Trajkowska, 2009, Doughari et al., 2011, Jung et Park, 2015**). *Acinetobacter spp.* est généralement considérés comme faisant partie de la flore normale de la peau (**Towner, 2006**) et responsables d'une grande variété d'infections locales et systémiques, y compris la pneumonie, la septicémie et les infections des plaies (**Beggs et al., 2006**). Les principales zones du corps peuplées par ces micro-organismes chez les malades hospitalisés sont la peau, l'oropharynx et le tube digestif (**Jung et Park, 2015**). *Acinetobacterspp* peut supporter des conditions sèches pendant de longues périodes. Ils ont également été isolés de la peau du personnel de santé, des matelas, des oreillers et dans tous les types d'équipements de ventilation et de situations humides (**Beggs et al., 2006, Kanafani et Kanj, 2014**).

Dans le genre *Acinetobacter* 33 espèces ont été décrites, dont 22 espèces nommées et 11 actuellement décrites comme espèces génomiques (**tableau 1**).

**Tableau 1. Classification du genre *Acinetobacter* (Dijkshoorn et al., 2007, Nemeč et al., 2009, Nemeč et al., 2010, Nemeč et al., 2011)**

Nom de l'espèce	Espèce génomique	source
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	Environnement et humains
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	Environnement, humains, viande et légumes
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	4	Humains
<i>Acinetobacter junii</i>	5	Humains
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	7	Humains et animaux
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	8,9	Humains et animaux
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	12	Environnement, humains et cotton

<i>Acinetobacter ursingii</i>		humains
<i>Acinetobacter schindleri</i>		humains
<i>Acinetobacter parvus</i>		Humains et animaux
<i>Acinetobacter baylyi</i>		Environnement et boue
<i>Acinetobacter bouvetii</i>		Boue
<i>Acinetobacter towneri</i>		Boue
<i>Acinetobacter tandoii</i>		Boue
<i>Acinetobacter grimontii</i>		Boue
<i>Acinetobacter tjernbergiae</i>		Boue
<i>Acinetobacter gerneri</i>		boue
<i>Acinetobacter venetianus</i>		Eau de mer
<i>Acinetobacter pittii</i>	3	Humains, environnement
<i>Acinetobacter nosocomialis</i>	13 TU	Humains
<i>Acinetobacter bereziniae</i>	10	Humains, environnement et légumes
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	11	Humains et animaux
	14 BJ	Humains
	13 BJ, 14 TU	Humains
	14BJ	Humains
	15BJ	Humains
	16	Humains et légumes
	17	Humains et environnement
	15TU	Humains et animaux
	Entre 1 et 3	Humains
	Proche de 13 TU	Humains

### 3. Caractéristiques bactériologiques du genre *Acinetobacter*

#### 3.1. Morphologie et structure

*Acinetobacter* est un coccobacille à gram négatif. Cependant, ces bactéries résistent parfois à la décoloration de Gram en retenant le Crystal violet et peuvent donc être mal identifiées, comme des cocci Gram positif. Leur diamètre varie de 1,0 à 1,5µm sur 1,5 à 2,5µm de longueur, parfois encapsulée, souvent en diplocobacilles ou parfois en chaînes de longueur variable, non sporulée et immobile (Denis *et al.*, 2016 ; Doughari *et al.*, 2011). Son nom est dérivé du grec «akineto», qui signifie immobile ou non mobile et a été donné en raison du manque de flagelle (McBride, 2010). L'analyse de nouvelles séquences du génome d'*A. baumannii* a révélé une absence de gènes flagellaires (Clemmer *et al.*, 2011). Cependant, *A. baumannii* se propage rapidement sur les surfaces probablement en raison de la motilité des contractions ou «twitching motility», une forme de translocation de surface précédemment décrite dans *Acinetobacter calcoaceticus* (Roca *et al.*, 2012).

#### 3.2. Caractère cultureux

Les bactéries sont strictement aérobies et bien qu'elles se développent sur la plupart des milieux de laboratoire à des températures de 20 à 30 ° C avec des isolats cliniques poussant entre 37 et 42 ° C, pour la plupart des souches, la température optimale est de 33 à 35 ° C (Doughari *et al.*, 2011). Les isolats cliniques d'*Acinetobacter* se cultivent bien à une température de 37°C et certaines souches peuvent se développer à des températures élevées (Seifert et Dijkshoorn, 2008). Sur gélose au sang (BA)(blood agar ), les colonies présentent une morphologie et une taille typiques: non pigmentées, de couleur blanche ou crème, lisses ou mucoïdes (lorsque la capsule est présente), opaques, de 1 à 2 mm de diamètre (après 18 à 24h d'incubation à 37°C) (Bergogne-Bérézin, 2009).

#### 3.3. Caractéristiques biochimiques

Les *Acinetobacter* sont des bactéries présentant des réactions de catalase positive et d'oxydase négative, et n'ont pas la capacité de métaboliser les sucres par les voies fermentaires (Kurcik-Trajkowska, 2010; Vanechoutte *et al.*, 2011). Par surcroît, la majorité des tests biochimiques utilisés habituellement en bactériologie clinique sont négatifs

: indole, réduction des nitrates en nitrites, décarboxylase pour la lysine (LDC), décarboxylase pour l'ornithine (ODC), production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S), bêta-galactosidase et DNase. Par ailleurs, les tests de l'uréase, l'hydrolyse de la gélatine ou la phénylalanine désaminase (PAD) donnent quant à eux des réponses variables (**Doughari *et al.*, 2011; Hawkey et Bergogne-Berezin, 2006**).

#### 4. Pouvoir pathogène

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

#### 5. Épidémiologie d'*A. Baumannii*

*A.baumannii* est principalement un pathogène associé aux soins de santé et de nombreux rapports l'ont indiqué comme étant la cause d'épidémies et d'infections nosocomiales, y compris la septicémie, la bactériémie, la pneumonie associée au ventilateur, la septicémie, l'endocardite, la méningite et les infections des voies urinaires (**Vashist *et al.*, 2011**). *Acinetobacter* multirésistant (MDR *Acinetobacter*) ne représente qu'une menace minimale pour les professionnels de la santé ou les membres de la famille des patients car il provoque rarement une infection grave chez les personnes en bonne santé (**Kanafani et Kanj, 2014**).

#### 6. Facteurs de virulence d'*Acinetobacter*

*Acinetobacter* est considéré comme un organisme de faible virulence (**Kurcik-Trajkowska, 2009; Kanafani et Kanj, 2014**). Les facteurs de virulence possibles sont: l'hydrophobicité de la surface cellulaire, les protéines de la membrane externe (OMP), les polysaccharides visqueux toxiques et les vérotoxines. *Acinetobacter spp* a été démontré qu'il présente une hydrophobicité de la surface cellulaire, un important facteur d'adhésion bactérienne et qui peut également l'aider à éviter d'être phagocyté (**Kurcik-Trajkowska, 2009; Doughari *et al.*, 2011; Kanafani et Kanj, 2014**). Plusieurs OMP appartenant à la famille OmpA ont été

caractérisées dans différentes souches d'*Acinetobacter*. Les protéines de la membrane externe (OMP), qui sont présentes dans certaines bactéries à Gram négatif, sont connues pour jouer un rôle crucial dans la pathogenèse et l'adaptation dans les cellules hôtes ainsi que dans la résistance aux antibiotiques (Doughari *et al.*, 2011; Kanafani et Kanj, 2014). Les lipopolysaccharides (endotoxines) d'*A. baumannii* sont de puissants stimulateurs des globules blancs en circulation pour libérer des substances pro-inflammatoires (Erridge *et al.*, 2007; Kanafani et Kanj, 2014). Ils sont toxiques pour les neutrophiles et inhibent leur migration ainsi que leur phagocytose (Kurcik-Trajkowska, 2009; Doughari *et al.*, 2011; Kanafani et Kanj, 2014). *A.baumannii* produit de nombreux facteurs comme les enzymes extracellulaires, les cytotoxines et la perméabilité vasculaire sécrétée qui jouent un rôle important dans la pathogenèse et causent des dommages aux tissus hôtes, en particulier dans les infections des voies respiratoires (Tomaras *et al.*, 2008; Kanafani et Kanj, 2014). Les autres enzymes conférant la virulence sécrétées par les bactéries comprennent les estérases, certaines aminopeptidases et les phosphatases acides (Doughari *et al.*, 2011; Kanafani et Kanj, 2014). Les vérotoxines peuvent être classées en deux groupes antigéniques, vtx-1 et vtx-2. Les toxines appartiennent à une sous-famille de protéines particulière, les ARN N-glycosidases qui ciblent directement la machinerie des ribosomes cellulaires, inhibant la synthèse des protéines (Lambert *et al.*, 1993; Kanafani et Kanj, 2014).

## 1. Résistance naturelle

*A.baumannii* est naturellement résistant à plusieurs  $\beta$  -lactamines du fait de l'association de différents mécanismes impliquant  $\beta$  -lactamases, efflux et imperméabilité. *A.baumannii* produit naturellement deux types de  $\beta$ -lactamases, une céphalosporinase ou  $\beta$ -lactamase de la classe C d'Amber (également dénommée AmpC) et une oxacillinase ou  $\beta$ -lactamase de classe D (Poirel et Nordman, 2006a).

*Acinetobacter* possède dans son génome un gène codant pour la production d'une bêta-lactamase de type céphalosporinase (Bou et al., 2000). Cette céphalosporinase présente de nombreuses caractéristiques communes avec celles produites naturellement par *Pseudomonas aeruginosa* ou plusieurs entérobactéries comme *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogene*, *Morganella morganiou* *Hafnia alvei* (Poirel et Nordman, 2006a). 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 blaampC (Bou et al., 2000). Cependant, l'expression de bla ampC d'*A.baumannii* peut être de niveau supérieur et par conséquent générer une résistance plus étendue affectant en particulier la ceftazidime. Le gène codant l'enzyme AmpC est alors surexprimé et non pas déréprimé (Poirel et Nordman, 2006a). Plusieurs types de céphalosporinases ont été caractérisés chez *A.baumannii*. Elles sont maintenant appelées ADC (Acinetobacter-derived-cephalosporinase) et sont à l'origine de la résistance aux aminopénicillines, à céfalotine et la céfoxitine chez l'espèce *baumannii*. Comme les autres enzymes de la classe C, elle n'est pas sensible aux inhibiteurs de bêta-lactamase comme l'acide clavulanique (Heiritier et al., 2005).

Outre céphalosporinase, *A. baumannii* possède un gène codant une enzyme de classe D ou oxacillinase chromosomique naturelle 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. Le rôle de ces enzymes dans l'expression de la résistance aux antibiotiques est aujourd'hui très faible voire inexistant (Heiritier et al., 2005).

Chez *A.baumannii*, l'imperméabilité semble constituer un facteur également important dans la résistance aux  $\beta$  -lactamines, et en particulier aux carbapénèmes (Sato et Nakae., 1991). 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 (Sato K et Nakae T, 1991). 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 triméthoprimé mais excluant les aminoglycosides (Damier-Piolle *et al.*, 2008). 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. *A. baumannii* est également naturellement résistant à l'ertapénème, à la fosfomycine, au triméthoprimé, à l'acide pipémidique, à la norfloxacine (mais pas à l'acide nalidixique), aux furanes et est peu sensible à l'aztréonam (Decré, 2012).

## 2. Résistance acquise aux bêta-lactamines

### ➤ Les $\beta$ -lactamases

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes capables d'ouvrir le cycle  $\beta$ -lactame en créant un intermédiaire acylenzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (Figure13) (Ruppé, 2010).

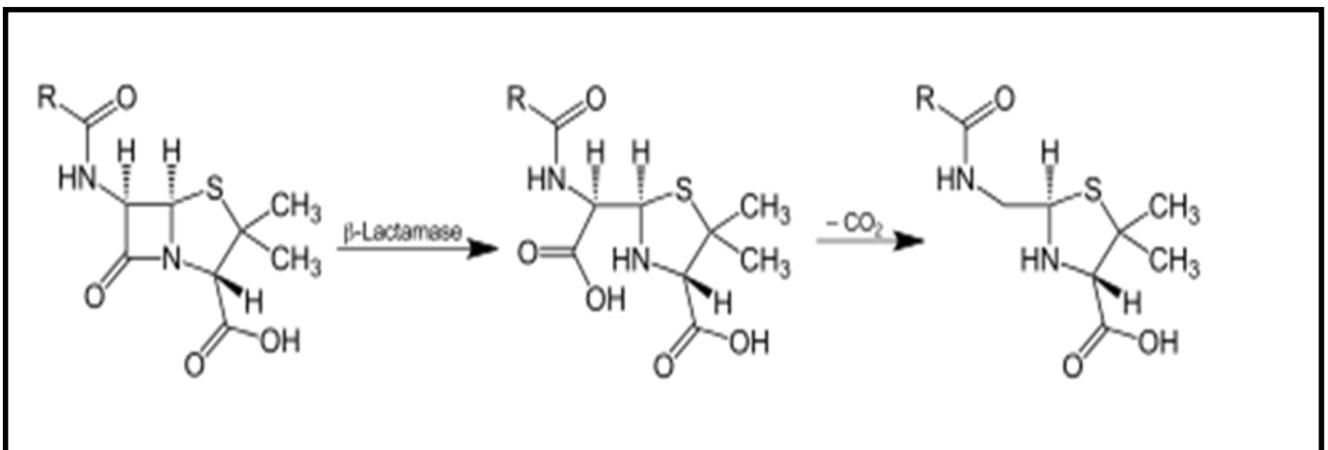


Figure 13. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

### ➤ Classification d'Ambller

La classification moléculaire est basée sur la séquence d'acides aminés et divise les  $\beta$ -lactamases en enzymes de classe A, C et D qui utilisent la sérine pour l'hydrolyse du  $\beta$ -

lactame et les métallo enzymes de classe B qui nécessitent des ions zinc divalents pour le substrat hydrolyse (Bush *et al.*, 1995).

- ✓ La classe A : correspond aux « pénicillinases » inhibées par l'acide clavulanique, Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, pipéracilline).
- ✓ la classe B: correspond aux carbapénémases ou métallo- $\beta$ -lactamases inhibées par l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), hydrolysent toutes les  $\beta$ - lactamines à l'exception de l'aztréonam.
- ✓ la classe C : regroupe les « céphalosporinases » non inhibées par l'acide clavulanique, hydrolysent préférentiellement les céphalosporines (céfalotine, ceftazidime, céfuroxime).
- ✓ la classe D: correspond aux oxacillinases qui constituent un groupe hétérogène. Cette classe est sensible à l'acide clavulanique.

**Tableau 2. Classification de Bush et Jacoby et correspondance avec la classification structurale d'Ambl er (Bush et Jacoby, 2010).**

Classe (Ambl er)	Groupe (Bush)	Substrats	Inhibition		Exemple
			AC/TZB	EDTA	
A	2a	Pénicillines.	+	-	PC1
	2b	Pénicillines, Céphalosporine de 1ère et 2ème génération	+	-	TEM-1, TEM -2, SHV-1
	2be	Pénicillines, Céphalosporine de 1ère ,2ème, 3ème et 4ème génération, monobactames	+	-	BLES de type TEM, SHV, CTX-M, VEB
	2br	Pénicillines, Céphalosporines de 1ère et 2ème génération.	+/-	-	TEM-30,-76,-103, SHV-10,-26
	2ber	Pénicillines, Céphalosporines de 1ère, 2ème, 3ème et 4ème génération, monobactames	+/-	-	TEM-50,-68,-89
	2c	Carbénicillines	+	-	PSE-1,-3,-4
	2°	Céphalosporines	+	-	Cep A

	2f	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes	+ (faible)	-	KPC-2, -3, GES-2, IMI-1, SME-1
B	3a	Toutes les $\beta$ -lactamines sauf les monobactames	-	+	Vim-1, IMP-1, NDM-1, L1
	3b	Carbapénèmes	-	+	Cpha, sfh-1
C	L	Meilleure hydrolyse des céphalosporines que de la pénicilline G ; Hydrolyse des céphamycines	-	-	B-lactamases de type AmpC, CMY-2, FOX-1, MIR-1.
D	2d	Pénicillines, cloxacillines, oxacilline	+/-	-	OXA-1,-10
	2de	Pénicillines, céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> (voire 4 <sup>ème</sup> ) génération	+/-	-	OXA-11,-15
	2df	Oxacilline, cloxacilline, carbapénèmes	+/-	-	OXA-23,-48

### 2.1. $\beta$ -lactamase de classe A et $\beta$ LSSE

Les  $\beta$ -lactamases appartenant à la classe A de la classification d'Ambler ont été rapportées chez *Acinetobacter spp* bien qu'elles semblent d'intérêt mineur au vu de leur faible prévalence. Différentes  $\beta$ -lactamases ont été décrites chez *A.baumannii* et autres espèces telles que TEM1, TEM-2, CARB-4, CARB-5, CARB-14, SHV-1, SHV-56, SHV-71 et SCO-1 (Bonnin *et al.*, 2013a). Ces enzymes hydrolysent les pénicillines à spectre étroit, mais pas les céphalosporines et les carbapénèmes et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (Potron *et al.*, 2015).

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendue (BLSE) conférant une résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération ont également été retrouvées. PER-1 a été la première enzyme de type BLSE décrite chez *A.baumannii*, en Belgique (Vahaboglu *et al.*, 1997), et est devenue plus tard très répandue en Turquie, Hongrie, Roumanie, Russie, Belgique, Bulgarie, France, Corée de Sud, Inde, Chine, Iran et Koweït (Almasaudi, 2016; Kolayli *et al.*, 2005; Potron *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2007; Yong *et al.*, 2003). Plusieurs variants de cette enzyme ont été par la suite rapportés, comme PER-2 en Amérique du sud (Pasterán *et al.*, 2006), PER-3 en Egypte (Al-Hassan *et al.*, 2013), PER-7 en France (Bonnin *et al.*, 2011a) et aux Emirats Arabes Unis (Opazo *et al.*, 2012). D'autres enzymes de type BLSE ont été identifiées chez *A.baumannii* dans plusieurs pays autour du monde VEB-(1, 3, et 7) (Huang *et al.*, 2008; Poirel *et al.*, 2003; Potron *et al.*, 2015) GES-(11, 12, et 22) (Bogaerts *et al.*, 2010; Castanheira *et al.*, 2014; Hammami *et al.*, 2017; Moubareck *et al.*, 2009) et RTG-4 qui était une BLSE atypique avec une activité carbénicillinase hydrolysant le céfépime et le ceftiprome plutôt que

la ceftazidime (Potron *et al.*, 2009). Enfin, les BLSE de type TEM, SHV et CTX-M fréquemment répandues chez les entérobactéries ont été rarement détectées chez *A.baumannii* (Potron *et al.*, 2011, 2015; Shakil et Khan, 2010). Bien que la quasi-totalité des BLSE de classe A ne possède pas une activité carbapénèmase, des variants spécifiques de GES tel que le GES-14 détectée en France en 2011, ont montré une capacité à compromettre l'efficacité des carbapénèmes. Le gène blaGES-14 a été localisé sur un intégron de classe 1 porté par un plasmide transférable (Bonnin *et al.*, 2011b). KPC, une autre carbapénèmase de classe A très répandue chez les entérobactéries, a été également détectée mais rarement chez des souches d'*A.baumannii*, au Porto Rico (Robledo *et al.*, 2010, 2011) et en Iran (Azimi *et al.*, 2015).

## 2.2. Les $\beta$ -lactamases Classe C

*A.baumannii* possède naturellement un gène qui code pour une céphalosporinase de type AmpC. Ce gène est souvent exprimé à faible niveau, ainsi la quantité produite de l'enzyme AmpC n'a pas d'impact sur l'activité des céphalosporines à spectre élargi (Bou et Martínez Beltrán, 2000). Cependant, la présence des séquences d'insertion telle que l'ISAbal en amont du gène ampC augmente son expression, ce qui confère la résistance aux céphalosporines à large spectre (Héritier *et al.*, 2006). Plusieurs variants de ces enzymes ont été identifiés chez les souches d'*A.baumannii* et sont ainsi nommés enzymes de type ADC (Acinetobacter-Derived Cephalosporinase) (Hujer *et al.*, 2005). De façon remarquable, certains de ces variants possèdent une activité contre les céphalosporines de 4ème génération d'où le nom ESAC pour Extended - Spectrum AmpC (Tian *et al.*, 2011).

## 2.3. Résistance acquise aux carbapénèmes

Chez *A.baumannii* la production de carbapénèmases est le mécanisme de résistance aux carbapénèmes le plus répandu (Ramoul *et al.*, 2013). Des enzymes conférant la résistance acquise aux carbapénèmes ont été caractérisées dans les quatre classes moléculaires de bêta-lactamases. Parmi la classe A d'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 (Bonnin *et al.*, 2011; Moubarek *et al.*, 2009).

#### 2.4. Les $\beta$ -lactamases de Classe B

Les enzymes de cette classe possèdent un ou deux atomes de zinc dans leur site actif et sont aussi dénommées Métallo- $\beta$ -Lactamases (MBL). Elles hydrolysent les carbapénèmes et autres  $\beta$ -lactames à l'exception de l'aztreonam, et ne sont pas inhibées par les inhibiteurs classiques des  $\beta$ -lactamases tels que l'acide clavulanique et le tazobactam. Cependant, les chélateurs de métaux peuvent inhiber l'activité de ces enzymes (Nordmann *et al.*, 2012; Walsh *et al.*, 2005). De nombreux groupes de MBL ont été décrits à ce jour comme IMP, VIM, NDM, SPM, GIM, SIM, DIM, KHM, TMB, FIM et AIM (Poirel et Nordmann, 2006; Zhao et Hu, 2015). NDM-1 ou New-Delhi Métallo- $\beta$ -Lactamase est une autre enzyme de classe B décrite pour la première fois en 2009 chez des souches d'*Entérobactéries* isolées en Inde (Yong *et al.*, 2009). Depuis cette date, le gène blaNDM-1 a diffusé largement parmi les entérobactéries. Cependant, de nombreuses études ont rapporté l'acquisition de ce gène blaNDM-1 chez *A. baumannii*. Ce gène peut être plasmidique ou chromosomique, souvent associé au transposon de type Tn125 et ses dérivés (Bonnin *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2011). Les Premières NDM-1 en Algérie ont été identifiées chez des souches d'*A. baumannii* isolées chez des patients algérien transférés en France (Boulangier *et al.*, 2012). Une autre étude a récemment rapporté la présence de ce gène chez des souches d'*A. baumannii* à l'ouest de l'Algérie (Mesli *et al.*, 2013).

#### 2.5. Les $\beta$ -lactamases Classe D

Les  $\beta$ -lactamases de classe D ou oxacillinases constituent un groupe hétérogène qui est capable d'hydrolyser aussi bien l'oxacilline et la cloxacilline que les benzyl pénicillines, d'où le préfixe OXA. Ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ni les autres inhibiteurs. En outre, certaines enzymes de cette classe possèdent une activité carbapénémase d'où le nom CHDLs pour carbapenem-hydrolysing classe D  $\beta$ -lactamases (Poirel *et al.*, 2010).

Les CHDLs (Carbapenem hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase) sont les carbapénémases les plus répandues chez *Acinetobacter spp* (Bonnin *et al.*, 2013a). *A.baumannii* possède naturellement un gène qui code pour une enzyme de classe D, appelée OXA-51. Cette enzyme a une faible activité carbapénémase et le gène correspondant ne s'exprime pas chez la plupart des isolats. Cependant, la présence de la séquence d'insertion ISAbal en amont du gène

confère une sensibilité réduite aux carbapénèmes (**Héritier et al., 2005; Turton et al., 2006b**).

La première oxacillinase 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 (**Paton et al., 1993**). En Algérie, OXA-58 flanquée à ces deux extrémités par la séquence d'insertion ISAb3 a été décrite pour la première fois en 2010 à Tlemcen (**Drissi et al., 2010**). La résistance aux carbapénèmes chez *A.baumannii*, liée à la présence de céphalosporinase et d'OXA-51 surexprimée avec l'ISAbalen amont n'a pas décrit en Algérie (**Baba Ahmed et Arlet, 2014**). OXA-23 est la carbapénémase la plus répandue et semble être endémique en Algérie (**Mugnier et al., 2010**).

## 2.6. Diminution de la perméabilité membranaire

Une membrane externe imperméable, un faible nombre de porines et plusieurs autres caractéristiques constitutives jouent un rôle dans le comportement des *Acinetobacters* en ce qui concerne la capacité de résistance aux antibiotiques et la survie dans l'environnement. *A.baumannii* possède des porines, ce qui la rend beaucoup moins perméable que les autres bactéries Gram négatif et qui pourrait être une raison pour la résistance intrinsèque (**Camp et owatha, 2010; Hooper, 2005; Vila et al., 2007**). Des modifications de la perméabilité membranaire chez *A.baumannii* peuvent jouer un rôle important dans la résistance, notamment aux carbapénèmes. Ainsi, la perte de la protéine de membrane externe (Outer membrane protein) (OMP) CarO (29 kDa) (**Mussi et al., 2005**).

## 2.7. Les pompes à efflux

L'implication dans la multi-résistance aux antibiotiques des systèmes d'efflux d'origine naturels ou acquis est de plus en plus rapportée. Parmi les systèmes d'efflux décrits chez *A.baumannii* : Ade ABC et AdeIJK, appartenant à la famille RND (Résistance-Nodulation-Division) conférant une résistance à un large spectre d'agents antimicrobiens y, compris les béta-lactamines, la pompe AdeABC est retrouvée chez 80% des souches d'*A.baumannii*. AdeIJK est une pompe spécifique d'*A.baumannii* qui contribue à la résistance intrinsèque de bas niveau aux  $\beta$ -lactamines et aux autres antibiotiques (**Damier-Piolle et al., 2008**).

## 2.8. Modification des Protéines Liant les Pénicillines (PLP)

Sept PLP ont été identifiées dans l'espèce *baumannii* : PLP1a, PLP1b, PLP2, PLP3, PLP5/6, PLP6b, et PLP7/8. PLP6b a été mise en cause dans une souche présentant une résistance aux carbapénèmes (Decré, 2012).

## 3. Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides chez *A.baumannii* est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices telles que les acétyl-transférases, les phosphotransférases et les adényl-transférases (Aliakbarzade *et al.*, 2014), ainsi que la méthylation de l'ARNr16S par armA. Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides, des transposons ou des cassettes au sein d'intégrons, facilitant leur rapide propagation (Decré, 2012).

Parmi les différentes méthylases, ArmA a été largement rapportée chez plusieurs souches d'*A.baumannii* conférant la résistance à tous les aminosides. De telles souches ont été isolées en Chine, Corée, Vietnam, Japon, Amérique du Nord, Norvège, Italie, Bulgarie, Iran et en Algérie (Potron *et al.*, 2015). Outre les nombreuses études rapportant la production d'ArmA, une autre méthylase appelée RmtB a été identifiée chez des souches d'*A.baumannii* isolées au Vietnam (Tada *et al.*, 2013). Enfin, la résistance aux aminosides peut être associée à deux pompes à efflux : la pompe AdeABC (Resistance Nodulation- Cell Division) et la pompe AbeM appartenant à la famille MATE (Multidrug and toxic compound extrusion) (Almasaudi, 2016; Roca *et al.*, 2012).

## 4. Résistance aux fluoroquinolones

L'apparition de la résistance aux fluoroquinolones a suivi de près la mise sur le marché de ces molécules et les premières souches résistantes ont été isolées dans les années 90 (Decré, 2012). Chez *A.baumannii*, l'acquisition de la résistance à cette famille d'antibiotiques est principalement liée à des mutations chromosomiques au niveau d'une région appelée « quinolone resistance determining region (QRDR), notamment dans les gènes *gyrA* et *ParC* codant les topo-isomérases, l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV (Potron *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2012). D'autre part, les mutations au niveau des systèmes de régulation des pompes à efflux empêchent l'accumulation intracellulaire de l'antibiotique et constituent un autre mécanisme de résistance aux quinolones. Ainsi, la surexpression des systèmes d'efflux de

type RND (AdeABC, AdeIJK) et MATE (AbeM) contribue à l'acquisition de résistance aux quinolones (Almasaudi, 2016).

### 5. Résistance acquise aux polymyxines

Les premières souches d'*A.baumannii* résistantes à la colistine ont été isolées en 2005 en Corée de Sud, Espagne, Iran, France et Etats Unis (Potron *et al.*, 2015). Par ailleurs, il a été rapporté récemment que le pompe à efflux EmrAB peut jouer un rôle dans la résistance à la colistine chez *A.baumannii* (Lin *et al.*, 2017). Au cours de la dernière décennie, la polymyxine B et la polymyxine E (colistine) ont présenté un regain d'intérêt thérapeutique malgré leurs effets indésirables. En effet, suite à l'émergence des bactéries à Gram négatif hautement résistantes aux antibiotiques et le manque de nouvelles molécules sur le marché, la colistine a été de plus en plus prescrite. Ceci a eu pour conséquence une apparition puis diffusion des souches d'*A.baumannii* résistantes à la colistine (Potron *et al.*, 2015).

L'acquisition de la résistance est principalement liée à des modifications au niveau des voies de la biosynthèse du lipopolysaccharide (LPS) (Almasaudi, 2016; Potron *et al.*, 2015). Chez *A.baumannii*, deux mécanismes de résistance à la colistine ont été décrits: l'altération du lipide A, composant du LPS suite à des mutations au niveau de système de régulation à deux composantes PmrAB, et l'absence de production de LPS résultant de mutations dans les gènes *lpxA*, *lpxC* et *lpxD* qui codent pour les enzymes catalysant les premières étapes de la synthèse (Adams *et al.*, 2009; Beceiro *et al.*, 2011; Moffatt *et al.*, 2010).

*PARTIE II*  
*MATERIEL ET*  
*METHODES*

## **1. Matériel**

### **1.1. Lieu d'étude**

Ce travail expérimental a été réalisé au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à l'environnement (LAMAABE) et au niveau du Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen (CHU) durant la période de février-mars 2020.

### **1.2. Milieux de culture**

#### **➤ Milieux de culture liquides**

Bouillon nutritif (BN).

Bouillon cœur cerveau (BHIB).

Eau physiologique.

#### **➤ Milieux de culture solides**

Mac Conkey (MC)

Müller-Hinton (MH)

Gélose nutritif (GN)

### **1.3. Tests biochimiques**

Galerie API 20E.

Disques d'oxydases.

### **1.4. Réactifs**

Réactif TDA.

Réactif KO VACS.

Réactif Voges Proskauer (VP1, VP2).

Huile de paraffine.

## 2. Méthodes

### 2.1. Prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à partir de divers sites sur patient hospitalisés (aspiration trachéale, sonde urinaire et plaie) au niveau du service de réanimation, traumatologie, chirurgie et de médecine interne.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignements qui comporte :

-Nom et prénom.

– Age et sexe.

-Date d'incubation.

–Traitement antibiotique

Les prélèvements sont ensuite ensemencés dans 5 ml de bouillon nutritif puis incubés pendant 18h à 24h à 37°C.



**Figure 14. Des prélèvements écouvillonnage, urinaire et trachéale dans des tubes stériles contenant 5 ml de bouillon nutritif (photo originale).**

**Tableau 3. Répartition des prélèvements selon les services**

Service	Réanimation	Traumatologie	Chirurgie	Médecine interne	Totale
Prélèvements	9	14	7	3	33

## **2.2. Ensemencement**

La recherche des germes procède directement à déposer une charge condensées en stries sur toute la surface de la gélose Mac Conkey pour l'isolement des bactéries à Gram négatif puis les incubées pendant 24 heures à 37°C.

## **2.3. Isolement et purification**

On procède directement à une lecture morphologique de différentes colonies obtenues, ensuite les purifier après plusieurs passage sur le même milieu par épuisement. Pour l'obtention des souches pures à identifier et l'isolement des *Acinetobacter baumannii*. Le milieuensemencé est incubé à 37°C pendant 24h.

## **2.4. Identification**

L'identification a été réalisée à l'aide du teste d'oxydase et par la galerie API 20E à partir des cultures pures.

### **2.4.1. Techniques**

#### **2.4.1.1. Teste d'oxydase**

L'oxydase est une enzyme recherchée en bactériologie systématique. Sa présence ou son absence représente un des critères systématiques les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bacilles à gram négatif.

Ce test est réalisé en déposant des colonies pures sur un disque d'oxydase. Les bactéries positives pour l'enzyme oxydase prennent une rapide coloration violette au contacte du réactif. Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont oxydase négative ou y'a pas changement de couleur.

#### **2.4.1.2. Galerie API 20E**

L'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires a été réalisée par la galerie API 20E (Appareillage et Procédé d'Identification) (biomérieux). Cette dernière permet d'identifier les caractères biochimiques des bactéries, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratée. La galerie a été inoculée avec une suspension bactérienne qui

reconstitue les milieux. Après une période d'incubation de 24 heures, les résultats ont été révélés par un virage coloré spontané et l'addition des réactifs appropriés.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

➤ **Préparation de l'inoculum**

Une culture bactérienne jeune (18-24heures) a été réalisée sur milieu gélosé puis une colonie bien isolé a été prélevé à l'aide d'une pipette pasteur stérile et déposé dans 5 ml d'eau physiologique ou dans une ampoule d'API NaCl 0,85% medium (2ml) afin de réaliser une suspension bactérienne homogène.

➤ **Préparation de la galerie**

- ❖ Indiquer la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- ❖ Mettre de l'eau distillée stérile pour créer l'humidité au fond de la boîte.
- ❖ Mettre la galerie sur le fond de la boîte.
- ❖ A l'aide d'une pipette stérile introduire la suspension bactérienne dans les microtubes
  - pour les tests CIT, VP, et GEL remplir tube et cupule
  - pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules)
  - pour les tests: ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- ❖ Refermer la boîte puis l'incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture de la galerie**

Pendant la période d'incubation les réactions produites se traduisent par des virages colorés spontanés, ou montrés par l'ajout des réactifs :

- ❖ Pour le test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA.
- ❖ pour le test IND : ajouter une goutte de réactif KO VACS.
- ❖ Pour le test VP : ajouter une goutte de réactif VP I et VP 2.

La lecture de ces réactions s'effectue à l'aide d'un tableau de lecture (**Annexe 1**), et à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique l'identification de souches obtenues est réalisée (**Annexe2**).

### **2.4.1.3 Conservation des souches**

La conservation des souches a été réalisée à 4°C dans des tubes de gélose inclinée ou dans des tubes de gélose profonde.

### **2.4.1.4. L'antibiogramme**

Selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM) l'antibiogramme est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique, obtenu par diffusion des disques de papier buvard sur milieu gélosé. Il permet de déterminer la sensibilité des souches aux antibiotiques et d'orienter l'antibiothérapie. Les valeurs critiques définies pour les concentrations et les diamètres des zones d'inhibition déterminent les catégories des souches bactériennes en classe semi-quantitatives (sensible S, intermédiaire I ou résistante R).

#### **➤ Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture bactérienne jeune et pure de 18-24 heures sur milieu gélosé, réaliser une suspension en ensemençant de deux à trois colonies bien isolées dans 5 ml de bouillon BHIB et l'incuber pendant 24 heures à 37°C.
- une dilution de 1/100 a été réalisée dans 10 ml d'eau physiologique, puis homogénéiser la suspension bactérienne au vortex. sa densité optique doit être de 0.08-0.1 à une longueur d'onde de 625nm équivalente à 0,5 Mac Farland.

#### **➤ Ensemencement**

- Préparer des boîtes de pétri contenant 20 ml de gélose Müller-Hinton.

- Un écouvillon stérile a été trempé dans l'inoculum préalablement préparé, l'essoré sur la paroi interne de tube afin de le décharger et frotté en stries bien serrées sur la surface de la gélose, répéter la technique trois fois en tournant la boîte chaque fois et faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Rejeter l'excès et laisser sécher les boîtes pendant 20-30 minutes à l'étuve à 37°C.

- le dépôt des disques d'antibiotiques a été fait à l'aide d'une pince stérile en appuyant doucement sur chaque disque pour confirmer leur contact avec le milieu et laissant un espace de 2 à 3 cm entre chaque disque d'antibiotique. Les disques d'antibiotiques utilisés sont :

Ticarcilline (TIC), ticarcilline/acide clavulanique (TCC), pipéracilline (PIP), pipéracilline/tazobactam (TZP), aztréonam (ATM), céfotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ), céfépime (FEP), imipénème (IPM), méropénème (MEM), gentamycine (GM), tobramycine (TM), amikacine (AN), nétilmicine (NET), ciprofloxacine (CIP), colistine (CS), doxycycline (DO), norfloxacine (NOR).

- Laisser les boîtes 20 minutes à température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique, puis les incubent pendant 18-24 heures à 37°C.

- **Lecture**

- La lecture a été réalisée après incubation en mesurant avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition et comparer ces résultats aux diamètres critiques conformément aux normes (CASFM) (**Annexe 3**). Classer les bactéries dans l'une des catégories : sensible S, intermédiaire I ou résistante R).

*PARTIE III*  
*RESULTATS ET*  
*DISCUSSION*

## 1. Résultats

### 1.1. Prélèvements

Durant la période d'étude, 33 prélèvements ont été effectués dont 14 au niveau de service de traumatologie, 9 prélèvements au niveau de service de réanimation, 7 prélèvements au niveau de service de chirurgie et 3 prélèvements au niveau de service de médecine interne, ayant porté sur 28 patients au cours de leur hospitalisation au niveau de CHU de Tlemcen.

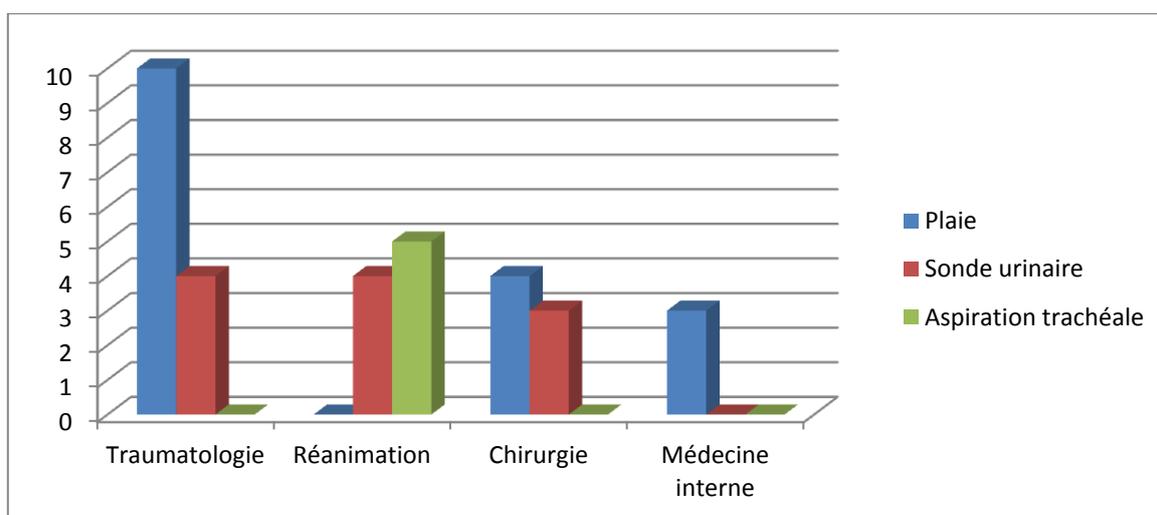


Figure 15. Répartition des prélèvements selon les services

### 1.2. Souches identifiées

Par rapport au total de 32 bacilles à Gram négatif (BGN) identifiées, 18 souches appartenant à la famille des entérobactéries avec un taux (56,25%), tandis que (43,75%) c'est-à-dire 14 souches des non fermentants (BGNnF). (Figur 16)

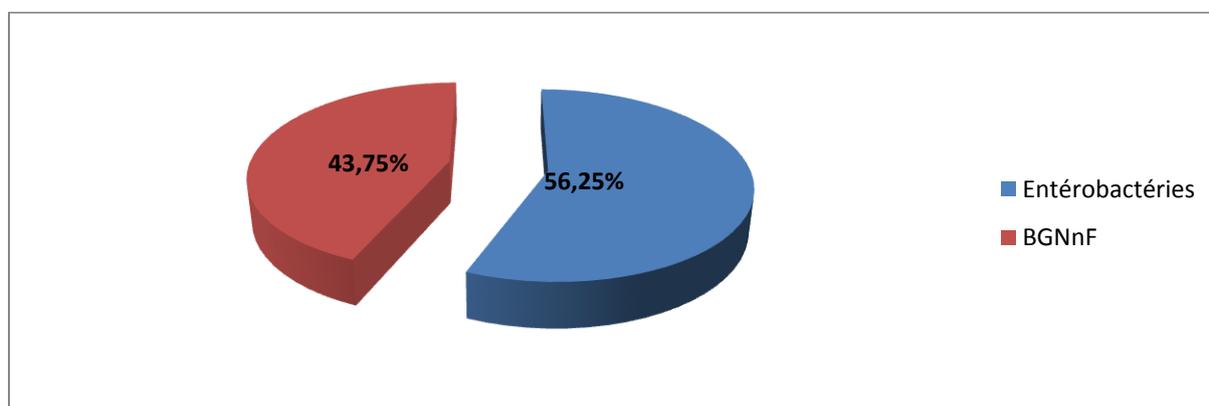


Figure16. Répartition des bacilles à Gram négatif à partir des prélèvements

L'analyse des prélèvements a permis d'isoler 32 bacilles à Gram négatif (BGN) dont 5 souches d'*Acinetobacter baumannii* identifiées correspondant à 15,62%, 9 souches appartenant à *P. aeruginosa* (28,125%), 5 *klebseilla pneumoniae* (15,625), 5 souches d'*Entérobacter cloacae* (15,625%), 4 souches de *Sérratia spp* (12,5%) et 4 souches d'*E.coli* (12,5%). *P. aeruginosa* occupe donc la première place concernant le taux d'isolement par rapport aux autres BGN. (Figure 17)

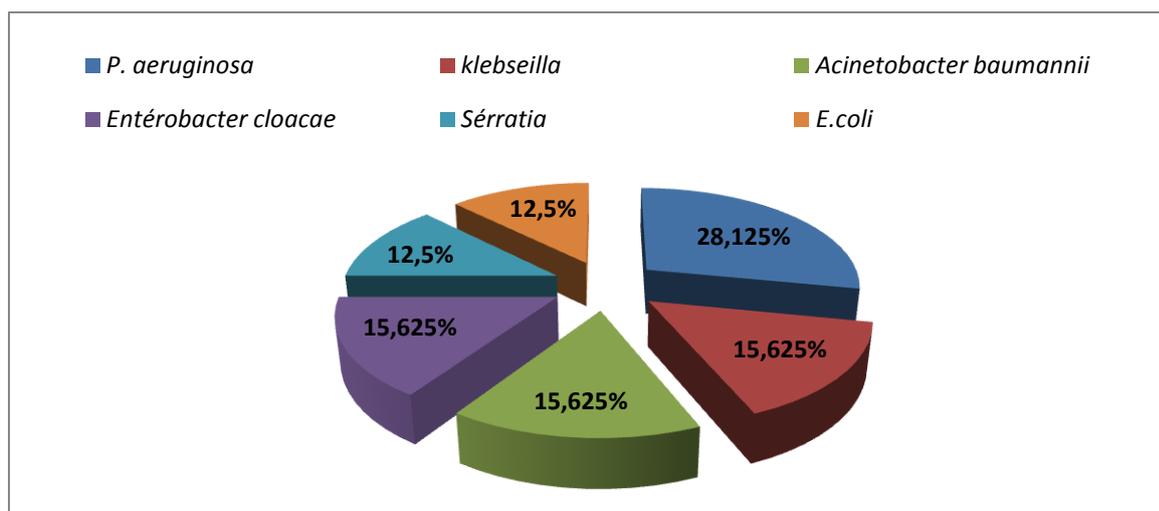


Figure 17. Taux des différentes espèces sur l'ensemble des BGN

Parmi 14 bacilles à Gram négatifs non fermentaires, 9 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées et 5 souches d'*Acinetobacter baumannii* correspondant (64,28%) et (35,71%) respectivement. (Figure 18)

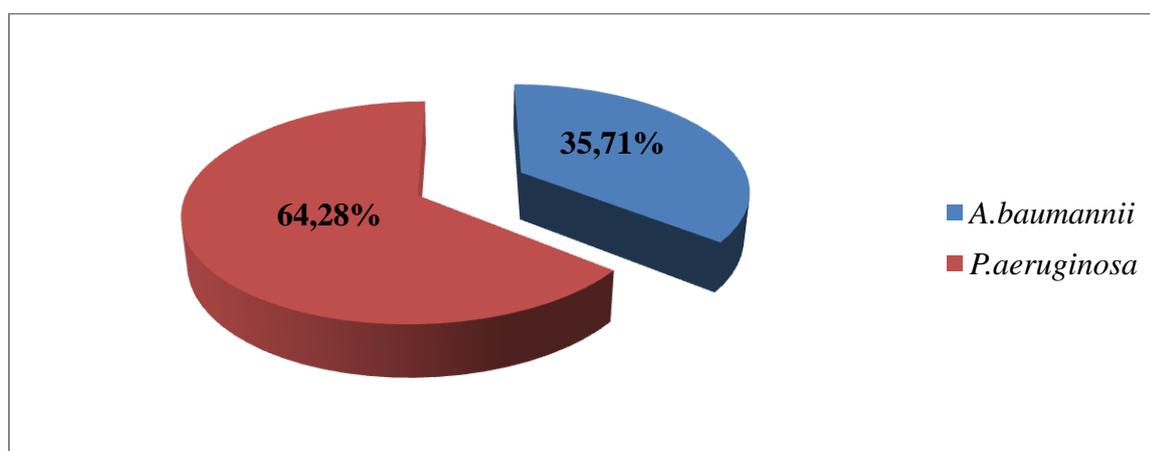
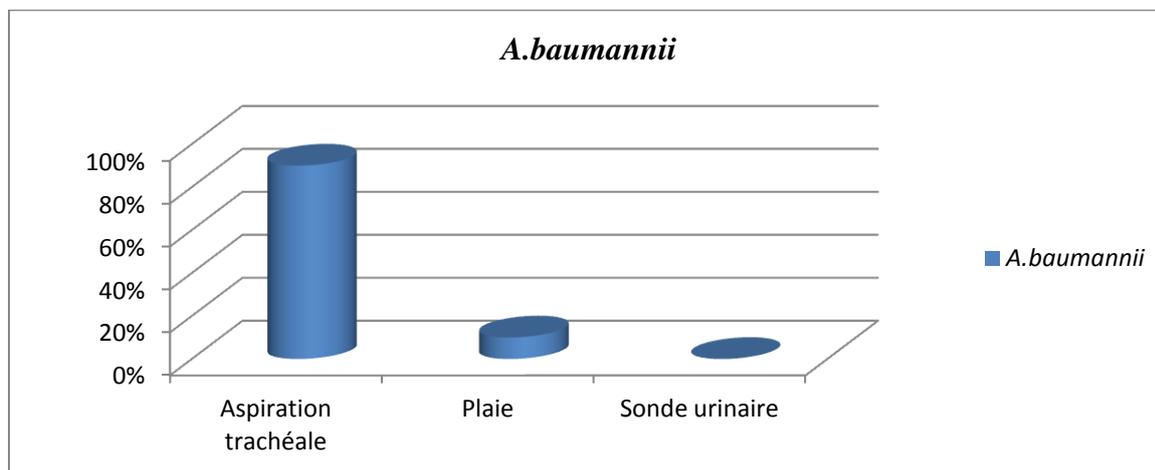


Figure 18. Répartition des bacilles à gram négatifs non fermentaire

### 1.2.1. Répartition d'*Acinetobacter baumannii* en fonction du site de prélèvement

La répartition d'*Acinetobacter baumannii* isolée à partir du service de réanimation et de traumatologie en fonction de la nature du prélèvement (aspirations trachéales et écouvillonnage) est montrée par l'histogramme ci-après :



**Figure 19.** La répartition d'*A.baumannii* selon les prélèvements

Le taux d'*Acinetobacter baumannii* varie aussi selon les sites de prélèvement, où elle a été abondamment isolée à partir des prélèvements effectués sur patients, dont le principal site d'isolement sont les prélèvements trachéaux (90%) correspond à 4 souches, suivi de celui de plaie de (10%) c'est-à-dire une seule souche. (Figure 19)

### 1.3. Identification d'*Acinetobacter baumannii*

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20E nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches d'*A.baumannii* (Figure 20), après la révélation d'oxydase négative par le test d'oxydase.



**Figure 20.** Plaque API 20E *Acinetobacter baumannii*

## 2. Discussion

*A. baumannii* est devenu un agent pathogène opportuniste humain important en raison de l'augmentation du nombre d'infections provoquées par ce microorganisme, et l'émergence de souches multi-résistantes (MDR). Le plus souvent, il est responsable d'infections nosocomiales difficiles à contrôler et à traiter en particulier dans les unités de soins intensifs (Mc Connell *et al.*, 2013).

De nombreuses études ont rapporté la prédominance d'*A.baumannii* dans le service de réanimation (Lee *et al.*, 2018).

Dans notre étude le profil bactériologique des isolats est marqué par une prédominance d'*A.baumannii* en réanimation par rapport aux autres services. Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Mesli en 2014. *A.baumannii* est la prédominante à Tlemcen et à Oran, tandis qu'à Sidi Bel Abbas *P.aeruginosa* est l'espèce majoritaire. En Algérie, *A. baumannii* représente 39.9% des infections qui surviennent en réanimation selon le réseau de surveillance Algérien (Rahal, 2012).

La réponse clinique et microbiologique d'*A.baumannii* continue d'augmenter dans les hôpitaux, les infections prédominantes due à cette espèce étaient les infections du site opératoire et les infections urinaires par contre, aujourd'hui elles sont remplacées par les infections respiratoires ce qui menace gravement la santé publique (Al-Anazi et Al-Jasser, 2014).

Il a été noté que le pourcentage d'isolement d'*A.baumannii* dans le prélèvement trachéal est le plus élevé (Jaidane *et al.*, 2018).

La persistance d'acquisition d'*A. baumannii* en réanimation est liée à un ensemble de facteurs, parmi lesquels figure principalement : l'antibiothérapie à spectre large, la sévérité de la pathologie sous-jacente, la ventilation mécanique, la durée prolongée du séjour, la durée du cathétérisme artériel, l'utilisation préalable des antibiotiques (Regaieg *et al.*, 2017).

L'*A. baumannii* est marquée par une évolution étonnante de la résistance aux antibiotiques en raison de sa capacité à se propager dans l'environnement hospitalier et à acquérir rapidement

des mécanismes de résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques (les  $\beta$ -lactamines à large spectre, les aminosides et les fluoroquinolones).

Chez *A.baumannii* la résistance à la céftazidime et à l'aztréonam est de 93%, 97% à Tlemcen, 98% à Oran et 97%, 95% à Sidi Bel Abbes respectivement (**MERAD BOUDIA, 2014**).

La résistance à l'imipénème est liée probablement soit par des mécanismes enzymatiques, par une production de M $\beta$ L, par les oxacillinases à activité de carbapénémase ou non enzymatique par une imperméabilité (perte ou mutation de porines) (**Alban G et al., 2013**). Pour l'imipénème le taux de résistance d'*Acinetobacter* est de 68%, 61% à Tlemcen et Oran respectivement, il est relativement moins élevé au niveau de Sidi Bel Abbes avec un taux de 38% (**MERAD BOUDIA, 2014**).

La résistance aux carbapénèmes a augmenté de manière alarmante ces dernières décennies, l'usage abusif de cette classe d'antibiotique dans les services hospitaliers y a largement contribué. Cette résistance est principalement liée à l'acquisition et à la production des oxacillinases à activité de carbapénémase notamment les : OXA-23, OXA-24 et OXA-58 (**Boulangier et al., 2012 ; Potron et al., 2015**).

En effet, des nombreuses épidémies hospitalières à *A.baumannii* multi-résistant et portant le gène blaOXA-23 ont été décrites à travers le monde (**Fouad et al., 2013; Merino et al., 2014; Principe et al., 2014; Zowawi et al., 2015**). En Algérie, de nombreuses études ont rapportées ce gène à Sétif et Tizi-Ouzou (**Bakour et al., 2012**) Annaba (**Touati et al., 2012**) Tlemcen, Oran et Sidi Bel abbes (**Mesli et al., 2013**).

La première OXA-24, a été identifié pour la première fois chez *A.baumannii* en Espagne en 1997 (**Zarrilli et al., 2013**). En Algérie, OXA-24 a été rapportée à Tlemcen, Oran et Sidi Bel Abbes (**Mesli et al., 2013**).

En Algérie, la diffusion de l'OXA-23 chez les isolats d'*A.baumannii* a été signalée depuis 2010. La coexistence du gène blaOXA-23 avec d'autres gènes d'oxacillinases a été rapportée

: blaOXA-24 (**Mesli et al., 2013**), blaOXA-72 (**Bakour et al., 2012**) et blaOXA-58 (**Touati et al., 2012**).

L'enzyme MBL de type NDM-1 a été trouvée pour la première fois en 2010 chez une souche d'*A.baumannii* isolée en Inde, par la suite d'autres blaNDM-1 ont été rapportée dans le monde (**Zarrilli et al., 2013**). En Algérie la première blaNDM-1 a été rapportée à Oran en 2011 (**Mesli et al., 2013**). Depuis cette enzyme a été rapporté dans les différentes villes d'Algérie (Oran, Alger, Sétif, Constantine, Tlemcen, Tizi-Ouzou).

Les fluoroquinolones sont des molécules couramment prescrites en milieu hospitalier. cette résistance étant principalement liée à la modification de la cible (gyrase et topoisomérase IV) (**Varon et al., 2002**).

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% (**AZZAM, 2018**), alors que le chiffre national en 2014 du réseau AARN (Algerian Antimicrobial Resistance Network) est de 51% (**Rahal et al., 2000, 2015**).

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% (**AZZAM, 2018**).

La colistine appartient à la famille des polymyxines, reste parfois le seul antibiotique disponible dans le cas des infections à *A.baumannii* résistants aux carbapénèmes. La résistance aux polymyxines est rare, cependant la majorité des mécanismes de résistance impliquent des modifications soit des protéines de la membrane bactérienne externe, du lipide A du LPS, ou de la stabilisation cationique de la paroi par le contenu en magnésium ou calcium (**Fernandez-Reyes et al., 2009**).

En Algérie, la résistance à la colistine chez les *A.baumannii* a été détectée en 2014. Cette résistance est associée à une mutation dans le gène *pmrB* (**Bakour et al., 2014**).

Première souche publiée en 2015, présentant une résistance à la colistine (CMI = 16 mg/L) et à l'imipénème (concentration minimale inhibitrice supérieure à 32 mg / L). L'isolat résistant à la colistine produisant l'enzyme OXA-24 contenait une seule mutation dans le gène *pmrB*. Cette souche a été isolée en 2014 dans un hôpital algérois.

Cinq souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées au laboratoire de bactériologie médicale et de surveillance de la résistance aux antibiotiques à l'Institut Pasteur d'Algérie entre 2012 et 2015 et provenant de différents services des hôpitaux d'Alger et de Tipaza étaient résistantes à la colistine (CMI de 4 mg/L à 128 mg/L), et à l'imipénème. Parmi ces souches, certaines sont productrices d'enzymes : NDM-1 et APH (3')-VI, SHV-33, CTX-M15 et AAC (6')-Ib (**Institut Pasteur d'Algérie, 2018**).

Les mécanismes de résistance à la colistine décrits chez *A.baumannii* sont les mutations au niveau des gènes régulateurs du système kinase (pmrA et pmrB) et des gènes responsables de la biosynthèse du lipide A du LPS (lpxA, lpxC et lpxD) (**Institut Pasteur d'Algérie, 2018**).

La colistine demeure le seul antibiotique plus ou moins efficace avec des taux de sensibilité plus élevées 92% à Tlemcen, 93% à oran et 76% à Sidi Bel Abbes (**MERAD BOUDIA, 2014**).

L'émergence de la résistance à la colistine est préoccupante. En Algérie, Cet antibiotique est utilisé en dernier recours pour traiter les infections dues à *A.baumannii* résistant aux carbapénèmes (**Institut Pasteur d'Algérie, 2018**). L'utilisation rationnelle des antibiotiques et le respect strict des mesures d'hygiène sont incontournables pour limiter la diffusion de ces souches (**Bakour et al., 2015**).

Toutes ces observations montrent une situation alarmante qui est en partie le résultat d'une utilisation mal contrôlée des antibiotiques dans le traitement des infections.

*CONCLUSION*

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont des germes responsables de pathologies variées, fréquentes et parfois redoutables. Ils sont impliqués dans les cas d'hospitalisation grave, causant principalement des infections sévères chez les patients gravement malades. Cette infection est due en grande partie, au pouvoir toxique de ces agents infectieux et à leur grande capacité de résister naturellement à de nombreux antibiotiques et d'acquérir de nombreux mécanismes de résistances, les taux croissants de résistance bactérienne chez les non-fermentaires menacent l'efficacité des antibiotiques utilisés comme option thérapeutique de dernier recours.

D'après les résultats de ce travail, l'analyse bactériologique des prélèvements cliniques émanant des différents services du CHU de Tlemcen a permis l'isolement des bactéries comportant *Acinetobacter baumannii*, qui ont montré une fréquence d'isolement élevé au niveau du service de réanimation.

La multi-résistance aux antibiotiques de cette espèce tend à devenir un problème de santé publique car des souches résistantes à la quasi-totalité des antibiotiques disponibles sont maintenant isolées. La pression de sélection exercée par l'usage des antibiotiques dans les services hospitaliers, en particulier dans les services de soins intensifs, favorise l'émergence de ces souches multirésistantes.

L'antibiothérapie sera donc à adapter à chaque patient en fonction des résultats de l'antibiogramme.

Face à cette situation et pour éviter l'émergence d'*acinetobacter baumannii* il est nécessaire de respecter les recommandations suivantes :

- ✓ L'hygiène des mains.
- ✓ L'entretien et le nettoyage régulier des surfaces.
- ✓ L'isolement des patients colonisés.
- ✓ La réduction et la réflexion sur une meilleure utilisation des antibiotiques.
- ✓ La ventilation mécanique de courte durée.
- ✓ La fermeture temporaire des services dans des cas extrêmes de l'émergence des souches pathogènes.

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

1. **Adams, M.D., Nickel, G.C., Bajaksouzian, S., Lavender, H., Murthy, A.R., Jacobs, M.R., and Bonomo, R.A. (2009).** Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB twocomponent system. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 3628–3634.
2. **Alban Gildas Comlan Zohoun, Danièle Mocket, and Sakina El Hamzaoui (2013).** Résistance à l'imipénème par production de métallo- $\beta$ -lactamases par *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* à l'Hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. *Lab. Bactériologie Hôp. Mil. D'instruction Mohammed V Rabat Maroc* 71, 27–30.
3. **Aliakbarzade, K., Farajnia, S., Karimi Nik, A., Zarei, F., and Tanomand, A. (2014).** Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolates. *Jundishapur J. Microbiol.* 7.
4. **Allag H. (2018).** classification et mode d'action des antibiotiques.
5. **Almasaudi, S.B. (2016).** *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J. Biol. Sci.*( Kolayli, F., Gacar, G., Karadenizli, A., Sanic, A., and Vahaboglu, H., Study Group (2005). PER-1 is still widespread in Turkish hospitals among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* *FEMS Microbiol. Lett.* 249, 241–245.
6. **Al-Anazi, K.A., and Al-Jasser, A.M. (2014).** Infections Caused by *Acinetobacter baumannii* in Recipients of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front. Oncol.* 4.
7. **Al-Hassan, L., El Mahallawy, H., and Amyes, S.G.B. (2013).** First report of bla(PER-3) in *Acinetobacter baumannii*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 41, 93–94.
8. **Asif M, Alvi I, A, & Rehman S. U. (2018).** Insight into *Acinetobacter baumannii* : pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance* ; 11 :1249-1260. doi : 10.2147/idr.sl.
9. **Azimi, L., Talebi, M., Pourshafie, M.-R., Owlia, P., and Rastegar Lari, A. (2015).** Characterization of Carbapenemases in Extensively Drug Resistance *Acinetobacter baumannii* in a Burn Care Center in Iran. *Int. J. Mol. Cell. Med.* 4, 46–53.
10. **AZZAM, A. (2018).** *Evolution phylogénique de l'espèce acinetobacter baumannii au chu de tizi-ouzou et étude de sa résistance aux  $\beta$ -lactamines, aminosides et quinolones* (Thèse de doctorat). Université de Tizi-Ouazou.
11. **Baba Ahmed-KaziTani Z, Decré D, Genel N, Boucherit-Otmani Z, Arlet G, Drissi M. (2008–2010).** Molecular and epidemiological characterization of *enterobacterial* multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria). *Microb Drug Resist* 2013;19:185–90.
12. **Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Arlet G. (2014).** News of antibiotic resistance among Gramnegative bacilli in Algeria. *Pathol Biol (Paris)*. Pii: S0369-8114(14)00056-X.
13. **Bakour S, Kempf M, Touati A, Ait AA, Haouchine D, Sahli F, et al. (2012).** Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J Med Microbiol* 61:1341–3.
14. **Bakour S, Touati 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 spread of metallo- $\beta$ -lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. *J Infect Chemother.* 20: 696-701.
15. **Bakour S, Loucif L, Brunel JM, Touati A, Rolain JM. (2015).** Rapid identification of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a Modified Carba NP test (Soumis).
16. **Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY (1968).** A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol* 95:1520–1541.

17. **Beceiro, A., Llobet, E., Aranda, J., Bengoechea, J.A., Doumith, M., Hornsey, M., Dhanji, H., Chart, H., Bou, G., Livermore, D.M., et al. (2011).** Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two-component regulatory system. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 3370–3379.
18. **Beijerinck (1911).** Über Pigmentbildung bei Essigbakterien. *Centr Bakteriol Parasitenk Abt II* 29, 169-176.
19. **Bentara,H et Abdelli,F.(2015).** *Caractérisation phénotypique de la résistance aux β-lactamines des souches d'Acinetobacter baumannii isolées à l'Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran* (Mémoire de master). Université A. MIRA – Bejaia.
20. **Bergogne-Bérézin, E. (2008).** Importance of *Acinetobacter spp.* In *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*, E. Bergogne-Bérézin, H. Friedman, and M. Bendinelli, eds. (Springer US), pp. 1–18.
21. **Brakhage, A. A., Q. Al-Abdallah, et al. (2005).** "Evolution of beta-lactam biosynthesis genes and recruitment of trans-acting factors." *Phytochemistry* 66(11): 1200-10.
22. **Bogaerts, P., Naas, T., El Garch, F., Cuzon, G., Deplano, A., Delaire, T., Huang, T.-D., Lissior, B., Nordmann, P., and Glupczynski, Y. (2010).** GES extended-spectrum β-lactamases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Belgium. *Antimicrob. Agents Chemother.*54,4872–4878.
23. **Bonnin, R.A., Potron, A., Poirel, L., Lecuyer, H., Neri, R., and Nordmann, P. (2011a).** PER-7, an extended-spectrum beta-lactamase with increased activity toward broad-spectrum cephalosporins in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 2424–2427.
24. **Bonnin, R.A., Nordmann, P., Potron, A., Lecuyer, H., Zahar, J.-R., and Poirel, L. (2011b).** Carbapenemhydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 349–354.
25. **Bonnin, R.A., Poirel, L., Naas, T., Pirs, M., Seme, K., Schrenzel, J., and Nordmann, P. (2012).** Dissemination of New Delhi metallo-β-lactamase-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Europe. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18, E362–365.
26. **Bonnin, R.A., Nordmann, P., and Poirel, L. (2013a).** Screening and deciphering antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*: a state of the art. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 11, 571–583.
27. **Bou, G., and Martínez-Beltrán, J. (2000).** Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 428–432.
28. **Boulanger A, Naas T, Fortineau N, Figueiredo S, Nordmann P. (2012).** NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. *Antimicrob Agents Chemother* 56:2214–5.
29. **Brisou, J., and Prevot, A.R. (1954).** [Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Acromobacter* group]. *Ann. Inst. Pasteur* 86, 722–728.
30. **Bryskier, A. (1999).** *Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques*. Paris Ellipses p: 55.
31. **Buxeraud, J., and Faure, S. (2016).** Les bêtalactamines. *Actual. Pharm.* 55, 1–5.
32. **Bush, K., and G. A. Jacoby. (2010).** Updated functional classification of betalactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 54:969-76.
33. **Camp C. et Owatha I.T., (2010).** A Review of *Acinetobacter baumannii* as a Highly Successful Pathogen in Times of War. *Labmedicine; Volume 41, N. 11.*

34. **Castanheira, M., Costello, S.E., Woosley, L.N., Deshpande, L.M., Davies, T.A., and Jones, R.N. (2014).** Evaluation of clonality and carbapenem resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex and *Enterobacteriaceae* isolates collected in European and Mediterranean countries and detection of two novel  $\beta$ -lactamases, GES-22 and VIM-35. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58, 7358–7366.
35. **Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E., (2004).** Bétalactamines. *EMC Maladies Infectieuses.* 1 : 129-202.
36. **Chan, J.Z.-M., Halachev, M.R., Loman, N.J., Constantinidou, C., and Pallen, M.J. (2012).** Defining bacterial species in the genomic era: insights from the genus *Acinetobacter*. *BMC Microbiol.* 12, 302.
37. **Charalabopoulos K , Karachalios G, Baltogiannis D , Charalabopoulos A, Giannakopoulos X, Sofilkitis N. (2003).** Penetration of antimicrobial agents into the prostate .*Chemotherapy* 49:269-79.
38. **Chen, Y., Zhou, Z., Jiang, Y., and Yu, Y. (2011).** Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 1255–1259.
39. **Clemmer, K. M., Bonomo, R. A., and Rather, P. N. (2011).** Genetic analysis of surface motility in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiology* 157, 2534–2544.
40. **Cosgaya, C., Mari-Almirall, M., Van Assche, A., Fernández-Orth, D., Mosqueda, N., Telli, M., Huys, G., Higgins, P.G., Seifert, H., Lievens, B., et al. (2016).** *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a new member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*
41. **C. Beggs, K. Kerr, A. Snelling, P. (2006).** Sleigh *Acinetobacter spp.* and the clinical environment *Indoor Built Environ.*, 15, pp. 19-24.
42. **Damier-Piolle, L., Magnet, S., Brémont, S., Lambert, T., and Courvalin, P. (2008).** AdeIJK, a resistancenodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52, 557–562.
43. **Decré, D. (2012).** *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques: Un modèle d'adaptation. *Rev. Francoph. Lab.* 2012, 43–52.
44. **Denis F, Poly M.C, Martin C, Cattoir V, (2016).** Bactériologie médicale, techniques usuelles. ELSEVIER MASSON, Cedex. P346-347.
45. **Dijkshoorn, L., Nemec, A., and Seifert, H., (2007).** An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 939–951.
46. **Doughari H.J, Ndakidemi P.A, Human I.S, Benade S, (2011).** Ecologie, biologie et pathogenèse d'*Acinetobacter spp* : Un aperçu. *Microbes and Environments*, 26 (2), 101-112. doi : 10.1264 / jsme2.me10179.
47. **Drissi M , Poirel L, Mugnier PD, Baba Ahmed Z, Nordmann P. (2010).** Carbapenemase – producing *Acinetobacter baumannii* ,Algeria, *Eur J Clin Microbiol Infect dis* 29 :1457-8.
48. **Ezaitouni F., Rhou H., Benamar L., Ouzeddoun N., Bayahya R., Balafrej L., (1999).** Rein et aminosides. *Médecine du Maghreb.* 77 :1.
49. **C. Erridge, O.L. Moncayo-Nieto, R. Morgan, M. Young, I.R. (2007).** Poxton *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharides are potent stimulators of human monocyte activation via Toll-like receptor 4 signalling *J. Med. Microbiol.*, 56, pp. 165-171.
50. **Fernandez-Reyes M, Rodriguez-Falcon M, Chiva C, Pachon J, Andreu D, Rivas L., (2009).** The cost of resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii*: a proteomic perspective. *Proteomics* ; 9:1632-45.

51. **Fouad, M., Attia, A.S., Tawakkol, W.M., and Hashem, A.M. (2013).** Emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* harboring the OXA-23 carbapenemase in intensive care units of Egyptian hospitals. *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.* 17, e1252–1254.
52. **Gagne S. (2018).** *Etude des mécanismes de virulence du pathogène nosocomial Acinetobacter baumannii.* Thèse de doctorat. Infectiologie. Université Claude Bernard Lyon1, France. P 16.
53. **Gaudy C, Buxeraud J. (2005).** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Paris: Elsevier. (4) Faure S. Les aminosides. *Act Pharm.* 2009;48(482):51-5.
54. **Hammami, S., Dahdeh, C., Mamlouk, K., Ferjeni, S., Maamar, E., Hamzaoui, Z., Saidani, M., Ghedira, S., Houissa, M., Slim, A., et al. (2017).** Rectal Carriage of Extended-Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenemase Producing Gram-Negative Bacilli in Intensive Care Units in Tunisia. *Microb. Drug Resist. Larchmt. N.*
55. **Hancock RE. (1997).** Peptide antibiotics. *Lancet* ; 349 :418-22.
56. **Hawkey, P., and Bergogne-Berezin, E. (2006).** *Acinetobacter spp.* In Principles and Practice of Clinical Bacteriology, S.H. Gillespie, and P.M. Hawkey, eds. (John Wiley & Sons, Ltd), pp. 231–244.
57. **Héritier, C., Poirel, L., Fournier, P.-E., Claverie, J.-M., Raoult, D., and Nordmann, P. (2005).** Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 4174– 4179.
58. **Hooper, D. C. (2005).** Efflux pumps and nosocomial antibiotic resistance: a primer for hospital epidemiologists. *Clin Infect Dis.* 40: 1811–1817.
59. **Hooper, D.C., and Rubinstein, E. (2003).** Quinolone antimicrobial agents. *Americ Soc Microbiol* p: 485.
60. **Huang, L.-Y., Chen, T.-L., Lu, P.-L., Tsai, C.-A., Cho, W.-L., Chang, F.-Y., Fung, C.-P., and Siu, L.K. (2008).** Dissemination of multidrug-resistant, class 1 integron-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14, 1010–1019.
61. **Institut Pasteur d’Algerie, (2018).** Alerte 7 janvier 2018. *Sante.dz*
62. **Jaidane, N., Naas, T., Oueslati, S., Bernabeu, S., Boujaafar, N., Bouallegue, O., and Bonnin, R.A. (2018).** Whole-genome sequencing of NDM-1-producing ST85 *Acinetobacter baumannii* isolates from Tunisia. *Int. J. Antimicrob. Agents.*
63. **Jung, J., and Park, W. (2015).** *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*
64. **Kanafani, A.Z., Kanj, S.S., (2014).** Ministry of Health, Kingdome of Saudi Arabia. <<http://www.uptodate.com/contents/acinetobacter-infection-treatment-and-prevention>>.
65. **Kempf M, Bakour S, Flaudrops C, Berrazeg M, Brunel JM, Drissi M, et al. (2012).** Rapid detection of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* using matrixassisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *PLoS One*;7:e31676.
66. **Kempf M., Rolain J., Diatta G., Azza S., Samb B., Mediannikov O. et al., (2012).** Carbapenem resistance and *Acinetobacter baumannii* in Senegal: The paradigm of a common phenomenon in natural reservoirs. *PLoS ONE* ; Volume 7, Issue 6.
67. **Kipnis E., Guery B.-P., (2010).** Réévaluation de la colistine.

68. **Kolayli, F., Gacar, G., Karadenizli, A., Sanic, A., and Vahaboglu, H., Study Group (2005).** PER-1 is still widespread in Turkish hospitals among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* FEMS Microbiol. Lett. 249, 241–245.
69. **Kurcuk-Trajkovska, B. (2010).** *Acinetobacter spp.* - A Serious Enemy Threatening Hospitals Worldwide. Maced. J. Med. Sci. 2, 157–162.
70. **K. Bush, G. A. Jacoby et A. A.(1995).** Medeiros, Antimicrob. Agents Chemother. 39: 1211-1233.
71. **Lee, H.-Y., Hsu, S.-Y., Hsu, J.-F., Chen, C.-L., Wang, Y.-H., and Chiu, C.-H. (2018).** Risk factors and molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* bacteremia in neonates. J. Microbiol. Immunol. Infect. 51, 367–376.
72. **Lin, M.-F., Lin, Y.-Y., and Lan, C.-Y. (2017).** Contribution of EmrAB efflux pumps to colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*. J. Microbiol. Seoul Korea 55, 130–136.
73. **Livermore DM., (1995).** Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clinical Microbiology Reviews;8(4):557-584.
74. **Magnet S,Blanchard JS. (2005).** Molecular insights into aminoglycoside action and resistance .Chem Rev ;105 :477-98.
75. **McBride, M. J. (2010).** Shining a light on an opportunistic pathogen. J. Bacteriol. 192,6325–6326.
76. **McConnell, M.J., Actis, L., and Pachón, J. (2013).** *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. FEMS Microbiol. Rev. 37, 130–155.
77. **Merino, M., Poza, M., Roca, I., Barba, M.J., Sousa, M.D., Vila, J., and Bou, G. (2014).** Nosocomial outbreak of a multiresistant *Acinetobacter baumannii* expressing OXA-23 carbapenemase in Spain. Microb. Drug Resist. Larchmt. N 20, 259–263.
78. **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;17:e739–43.
79. **Mme MERAD BOUDIA née MESLI Esma (2014).** *Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Acinetobacter baumannii.* Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l’Univers Département de Biologie.thèse p105.
80. **Moffatt, J.H., Harper, M., Harrison, P., Hale, J.D.F., Vinogradov, E., Seemann, T., Henry, R., Crane, B., St Michael, F., Cox, A.D., et al. (2010).** Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 4971–4977.
81. **Moubareck, C., Brémont, S., Conroy, M.-C., Courvalin, P., and Lambert, T. (2009).** GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. 53, 3579–3581.
82. **Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. (2010).** Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. Emerg Infect Dis;16:35–40.
83. **Mussi, M.A., Limansky, A.S., and Viale, A.M. (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, 1432–1440.
84. **Naiemi, N.A., Duim, B., Savelkoul, P.H.M., Spanjaard, L., de Jonge, E., Bart, A., Vandenbroucke-Grauls, C.M., and de Jong, M.D. (2005).** Widespread transfer of

- resistance genes between bacterial species in an intensive care unit: implications for hospital epidemiology. *J. Clin. Microbiol.* 43, 4862–4864.
85. **Nemec, A., M. Musilek, M. Maixnerova, T. De Baere, T. J. van der Reijden, M. Vanechoutte, 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.
  86. **Nemec A, Musilek M, Sedo O, De Baere T, Maixnerová M, van der Reijden TJ, Zdráhal Z, Vanechoutte M, Dijkshoorn L. (2010).** *Acinetobacter bereziniae sp. nov.* and *Acinetobacter guillouiae sp. nov.*, to accommodate *Acinetobacter* genomic species 10 and 11, respectively. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:896–903.
  87. **Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Deschaght P, PassetV, VanechoutteM, BrisseS, DijkshoornL. (2011).** Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii sp. nov.* (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis sp. nov.* (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *ResMicrobiol*162:393–404.
  88. **Nemec, A., Krizova, L., Maixnerova, M., Sedo, O., Brisse, S., and Higgins, P.G. (2015).** *Acinetobacter seifertii sp. nov.*, a member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65, 934–942.
  89. **Nordmann, P., Dortet, L., and Poirel, L. (2012).** Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! *Trends Mol. Med.* 18, 263–272.
  90. **OMS: Prévention des infections nosocomiales. Guide Pratique (2002).** Disponible sur : [http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002.12\\_fre.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre.pdf)
  91. **Opazo, A., Sonnevend, A., Lopes, B., Hamouda, A., Ghazawi, A., Pal, T., and Amyes, S.G.B. (2012).** Plasmidencoded PER-7  $\beta$ -lactamase responsible for ceftazidime resistance in *Acinetobacter baumannii* isolated in the United Arab Emirates. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 1619–1622.
  92. **Pasterán, F., Rapoport, M., Petroni, A., Faccione, D., Corso, A., Galas, M., Vázquez, M., Procopio, A., Tokumoto, M., and Cagnoni, V. (2006).** Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* Strains in the Americas. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 3222–3224.
  93. **Paton R , Miles RS , Hood J, Amyes SG, Miles RS, Aymes SG. (1993).** ARI 1 : beta-lactamase-mediated imipeneme resistance in *Acinetobacter baumannii* , *Int J Antimicrob Agents* ;2 :81-7.
  94. **Potron, A., Poirel, L., Croizé, J., Chanteperdrix, V., and Nordmann, P. (2009).** Genetic and biochemical characterization of the first extended-spectrum CARB-type beta-lactamase, RTG-4, from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 3010–3016.
  95. **Potron, A., Munoz-Price, L.S., Nordmann, P., Cleary, T., and Poirel, L. (2011).** Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 5946–5948.
  96. **Potron, A., Poirel, L., and Nordmann, P. (2015).** Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int. J. Antimicrob. Agents.*
  97. **Poirel, L., Menuteau, O., Agoli, N., Cattoen, C., and Nordmann, P. (2003).** Outbreak of extended-spectrum betalactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J. Clin. Microbiol.* 41, 3542–3547.

98. **Poirel, L., and Nordmann, P. (2006a).** Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc.Clin.Microbiol.Infect.Dis.12826–836.
99. **Poirel, L., Figueiredo, S., Cattoir, V., Carattoli, A., and Nordmann, P. (2008a).** *Acinetobacter* radioresistens as a Silent Source of Carbapenem Resistance for *Acinetobacter spp.* Antimicrob. Agents Chemother. 52, 1252–1256.
100. **Poirel, L., Naas, T., and Nordmann, P. (2010).** Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 24–38.
101. **Principe, L., Piazza, A., Giani, T., Bracco, S., Caltagirone, M.S., Arena, F., Nucleo, E., Tammaro, F., Rossolini, G.M., Pagani, L., et al., (2014).** AMCLI-CRAb Survey participants. Epidemic Diffusion of OXA-23-Producing *Acinetobacter baumannii* Isolates in Italy: Results of the First Cross-Sectional Countrywide Survey. J. Clin. Microbiol. 52, 3004–3010.
102. **Rahal KM. (2012).** Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. <http://www.sante.dz/aarn/documents/pdf/rapport13.pdf>.
103. **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).
104. **Ramirez MS, Tolmasky ME. (2010).** Aminoglycoside modifying enzymes , Drug Resist Updat;13 :151-71.
105. **Ramoul A., Hammami S., Dekhil M., Aimiri S. et al., (2013).** Phenotypic and genotypic characterization of clinical multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* from Algerian intensive care units. African Journal of Microbiology Research Volume 7(10), pp. 868-874.
106. **Regaieg, K., Bahloul, M., Turki, O., Mnif, B., and Bouaziz, M. (2017).** L'efficacité de l'association tigécycline–colistine dans le traitement d'une méningite à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant. Médecine Mal. Infect. 47, 175–177.
107. **Robledo, I.E., Aquino, E.E., Santé, M.I., Santana, J.L., Otero, D.M., León, C.F., and Vázquez, G.J. (2010).** Detection of KPC in *Acinetobacter spp.* in Puerto Rico. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 1354–1357.
108. **Robledo, I.E., Aquino, E.E., and Vázquez, G.J. (2011).** Detection of the KPC gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-based nosocomial surveillance study in Puerto Rico. Antimicrob. Agents Chemother. 55, 2968–2970.
109. **Roca, I., Espinal, P., Vila-Farrés, X., and Vila, J. (2012).** The *Acinetobacter baumannii* Oxymoron: Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. Front. Microbiol. 3, 148.
110. **Ruppé, E. (2010).** Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. Antibiotiques 12, 3–16.
111. **Sato K, Nakae T. (1991).** Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic résistance. J Antimicrob Chemother;28:35-45.
112. **Sayehmiri F, Alikhani MY, Sayehmiri K, Karami M, Ghaderkhani J. (2017).** The Prevalence of Antibiotic Resistance to Polymyxins in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iran and the World: A Systematic Review and Meta-Analysis. Shiraz E-Med J.18(12):e57580.

113. **Schaub, I. G. & Hauber, F. D., (1948).** A Biochemical and Serological Study of a Group of Identical Unidentifiable Gram-negative Bacilli from Human Sources. *J Bacteriol* 56, 379-385.
114. **Seifert, H., and Dijkshoorn, L. (2008).** “Overview of the Microbial Characteristics, Taxonomy, and Epidemiology of *Acinetobacter*.” In *Acinetobacter* Biology and Pathogenesis, E. Bergogne-Bérézin, H. Friedman, and M. Bendinelli, eds. (Springer US), pp.19–45.
115. **Shakil, S., and Khan, A.U. (2010).** Detection of CTX-M-15-producing and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains from urine from an Indian hospital. *J. Chemother. Florence Italy* 22, 324–327.
116. **Soussy C.J. (2000).** Antibiotiques, généralités. In: Frenay Renaud F, Hansen W, Boille tC, editors. Précis de bactériologie clinique. Paris: ESKA- Alexandre Lacassagne. p. 557–569.
117. **Soussy, (2006).** In Antibiogramme. 2ème édition. ESKA. Chapitre 4. Bases de la catégorisation clinique. 35-41.
118. **Tada, T., Miyoshi-Akiyama, T., Kato, Y., Ohmagari, N., Takeshita, N., Hung, N.V., Phuong, D.M., Thu, T.A., Binh, N.G., Anh, N.Q., et al. (2013).** Emergence of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in hospitals in Vietnam. *BMC Infect. Dis.* 13, 251.
119. **Tomaras, A.P., Dorsey, C.W., Mcqueary, C., Actis, L.A., (2008).** Molecular basis of *Acinetobacter* virulence and pathogenicity. In: *Acinetobacter* Molecular Microbiology.
120. **Touati A, Medboua C, Touati D, Denine R, Brasme L, (2012).** de Champs C. CTX-M15-producing *Enterobacteriaceae* isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algiers (Algeria). *Int Res J Microbiol*;3: 181–5.
121. **Turton, J.F., Ward, M.E., Woodford, N., Kaufmann, M.E., Pike, R., Livermore, D.M., and Pitt, T.L. (2006b).** The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol. Lett.* 258, 72–77.
122. **T. Lambert, G. Gerbaud, M. Galimand, P. (1993).** Courvalin Characterization of *Acinetobacter haemolyticus* aac (6′)-I<sub>g</sub> gene encoding an aminoglycoside 6′-N acetyltransferase which modifies amikacin *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37, pp. 2093-2100.
123. **T. LAMBERT., (1997).** P Etat actuel de la sensibilité des bactéries aux aminosides.
124. **Vahaboglu, H., Oztürk, R., Aygün, G., Coşkun, F., Yaman, A., Kaygusuz, A., Leblebicioglu, H., Balik, I., Aydin, K., and Otkun, M. (1997).** Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41, 2265–2269.
125. **Vakulenko, S.B., and Mobashery, S. (2003).** Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev* 16: 430-50.
126. **Van Bambeke F, Michot JM, Van Eldere J, Tulkens PM. (2005).** Quinolones in 2005: an update. *Clin Microbiol Infect*, 11: 256-80.
127. **Vanechoutte, M., Dijkshoorn, L., Nemec, A., Kämpfer, P., and Wauters, G. (2011).** *Acinetobacter*, Chryseobacterium, Moraxella, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods\*. 714–738.

128. **Varon Emmanuelle., Gutmann Laurent., (2002).** Epidémiologie des infections à *pneumocoque* ; épidémiologie des résistances. Médecine thérapeutique / Pédiatrie. 5(2): 5-20.
129. **Vashist, V. Tiwari, R. Das, A. Kapil, M.R. (2011).** Rajeswari Analysis of penicillin-binding proteins (PBPs) in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* Indian J. Med. Res., 133 , p. 332.
130. **Vila, J., S. Marti, and J. Sanchez-Cespedes., (2007).** Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 59: 1210–1215. 229.
131. **Walsh, T.R., Toleman, M.A., Poirel, L., and Nordmann, P. (2005).** Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? Clin. Microbiol. Rev. 18, 306–325.
132. **Wang, H., Guo, P., Sun, H., Wang, H., Yang, Q., Chen, M., Xu, Y., and Zhu, Y. (2007).** Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter spp.* from Chinese hospitals. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 4022–4028.
133. **Yong, D., Shin, J.H., Kim, S., Lim, Y., Yum, J.H., Lee, K., Chong, Y., and Bauernfeind, A. (2003).** High Prevalence of PER-1 Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Acinetobacter spp.* in Korea. Antimicrob. Agents Chemother. 47, 1749–1751.
134. **Yong, D., Toleman, M.A., Giske, C.G., Cho, H.S., Sundman, K., Lee, K., and Walsh, T.R. (2009).** Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob. Agents Chemother. 53, 5046–5054.
135. **Zahar J.R., Grall I., Kouatchet A.T., (2010).** Carbapénèmes: nouvelles molécules, différentes indications ?. La lettre de l'infectiologue. 25 (4) : 142-146.
136. **Zaki, M.E.S., Abou ElKheir, N., and Mofreh, M. (2018).** Molecular Study of Quinolone Resistance Determining Regions of gyrA Gene and parC Genes in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* Resistant to Fluoroquinolone. Open Microbiol. J. 12, 116–122.
137. **Zarrilli, R., Pournaras, S., Giannouli, M., and Tsakris, A. (2013).** Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. Int. J. Antimicrob. Agents 41, 11–19.
138. **Zhanel George G., Johanson Christel., Embil John M., Noreddin Ayman., Daryl J., (2005).** Ertapenem: review of a new carbapenem. Expert Review of AntiInfective Therapy. 3(1): 23-39.
139. **Zhao, W.-H., and Hu, Z.-Q. (2015).** Acquired metallo- $\beta$ -lactamases and their genetic association with class 1 integrons and ISCR elements in Gram-negative bacteria. Future Microbiol. 10, 873–887.
140. **Zowawi, H.M., Sartor, A.L., Sidjabat, H.E., Balkhy, H.H., Walsh, T.R., Al Johani, S.M., AlJindan, R.Y., Alfaresi, M., Ibrahim, E., Al-Jardani, A., et al. (2015).** Molecular Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates in the Gulf Cooperation Council States: Dominance of OXA-23-Type Producers. J. Clin.Microbiol.53,896–903.

# *ANNEXES*

## Annexe 1. Tableau de lecture de la Galerie API 20E

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune-gris
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune
<u>LDC</u>	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>CIT</u>	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (2)
<u>H<sub>2</sub>S</u>	sodium thiosulfate	0,075	production d'H <sub>2</sub> S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	<u>TDA / immédiat</u>	
				jaune	marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	<u>JAMES / immédiat</u>	
				incolore vert pâle / jaune	rose
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	
NO <sub>2</sub>	(tube GLU)	-	production de NO <sub>2</sub>	<u>NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min</u>	
				jaune	rouge

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.

(2) Lecture dans le cupule (zone aérobie).

(3) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

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

API 10 S	V3.1	ONPG	GLU	ARA	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	OX	NO <sub>2</sub>
<i>Citrobacter koseri/amalonicus</i>		97	100	95	0	86	87	0	2	0	92	0	99
<i>Citrobacter braakii</i>		51	100	99	0	99	75	81	1	0	1	0	99
<i>Citrobacter farmeri</i>		98	100	99	0	100	0	0	0	0	100	0	99
<i>Citrobacter freundii</i>		90	100	94	0	0	75	65	1	0	1	0	98
<i>Edwardsiella tarda</i>		0	99	1	99	100	1	94	0	0	99	0	99
<i>Escherichia coli 1</i>		76	95	80	98	56	1	3	4	0	70	0	99
<i>Escherichia coli 2</i>		74	99	90	0	32	1	0	2	0	50	0	98
<i>Escherichia vulneris</i>		100	99	99	15	0	0	0	4	0	0	0	99
<i>Enterobacter aerogenes</i>		99	99	99	98	99	84	0	2	0	0	0	99
<i>Enterobacter amnigenus</i>		99	98	98	0	95	56	0	0	0	0	0	99
<i>Enterobacter spp/Escherichia coli/Shigella sonnei</i>		100	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	99
<i>Enterobacter cloacae</i>		99	99	99	1	93	94	0	1	0	0	0	99
<i>Hafnia alvei</i>		60	99	75	100	98	40	0	5	0	0	0	99
<i>Klebsiella oxytoca</i>		99	99	96	78	2	90	0	40	0	100	0	99
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>		99	99	99	72	0	90	0	60	0	0	1	99
<i>Morganella morganii</i>		2	97	1	5	96	2	1	99	91	97	0	88
<i>Pantoea spp 1</i>		100	100	80	0	0	28	0	0	1	0	0	85
<i>Pantoea spp 2</i>		96	100	99	0	0	68	0	0	0	100	0	85
<i>Proteus mirabilis</i>		1	96	1	1	98	57	83	99	98	2	0	93
<i>Proteus penneri</i>		0	100	0	0	0	1	15	100	100	0	0	99
<i>Proteus vulgaris group *</i>		0	97	1	0	1	31	83	98	99	94	0	99
<i>Providencia rettgeri</i>		1	99	1	0	0	70	0	94	99	88	0	98
<i>Providencia stuartii/alcalifaciens</i>		1	99	2	0	0	91	0	15	100	98	0	99
<i>Salmonella choleraesuis ssp arizonae</i>		97	100	99	96	97	50	96	0	0	1	0	99
<i>Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis</i>		0	99	0	97	97	4	70	0	0	0	1	99
<i>Salmonella ser. Gallinarum</i>		0	100	100	100	1	0	33	0	0	0	0	99
<i>Salmonella ser. Paratyphi A</i>		0	100	99	0	100	0	5	0	0	0	0	99
<i>Salmonella ser. Pullorum</i>		0	100	68	75	99	0	85	0	0	0	0	99
<i>Salmonella spp</i>		4	100	94	92	95	74	85	0	0	3	0	99
<i>Salmonella typhi</i>		0	99	0	98	0	0	8	0	0	0	0	99
<i>Serratia liquefaciens</i>		94	100	98	70	99	85	0	5	0	0	0	99
<i>Serratia marcescens</i>		94	100	19	98	95	97	0	28	0	1	0	95
<i>Serratia odorifera</i>		95	99	95	97	43	87	1	0	0	99	0	99
<i>Shigella spp</i>		26	99	40	0	0	0	0	0	0	20	0	99
<i>Yersinia enterocolitica 1</i>		41	100	98	0	74	0	0	98	0	49	0	98
<i>Yersinia enterocolitica 2</i>		85	97	0	0	58	0	0	99	0	0	0	98
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>		77	98	29	0	0	13	0	96	0	0	0	95
<i>Aeromonas hydrophila</i>		96	98	61	50	0	50	0	0	0	85	99	98
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		95	99	0	100	100	0	0	1	0	99	99	99
<i>Vibrio alginolyticus/parahaemolyticus</i>		0	99	19	98	75	61	0	5	0	99	100	47
<i>Vibrio vulnificus/cholerae</i>		97	98	1	82	92	56	0	1	0	99	100	96
<i>Acinetobacter baumannii</i>		0	86	75	0	0	54	0	0	0	0	0	3
<i>Chryseobacterium indologenes</i>		20	0	0	0	0	14	0	92	0	70	99	20
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		70	0	0	0	0	20	0	0	0	81	100	6
<i>Pseudomonas aeruginosa/fluorescens/putida</i>		0	30	11	0	0	68	1	15	0	0	99	14
<i>Pseudomonas spp</i>		1	7	8	0	0	54	1	4	0	0	98	48
<i>Shewanella putrefaciens group *</i>		0	6	1	0	80	83	90	1	0	0	100	96
<i>Sphingobacterium multivorum</i>		96	46	17	0	0	30	0	92	0	0	96	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		60	1	0	48	0	76	1	0	0	0	4	26

**Annexe 3. Tableau de diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Acinetobacter baumannii*(CASFM, 2018)**

Fmille d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Signe	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)	
				S $\geq$	R
$\beta$ -lactamines	ticarcilline	TIC	75	20	15
	Ticarcilline + ac.clavulanique	TCC	75-10	20	15
	pipéracilline	PIP	30	21	18
	Astréonam	ATM	30		
	Céftazidime	CAZ	10	18	15
	Imipénème	IMP	10	23	17
Aminosides	Tombramycine	TOB	10	17	17
	Gentamycine	GN	10	17	17
	Amikacine	AK	30	19	17
Fluroroquinolones	Cirofloxacine	CIP	5	21	21
Autres	Colistine	CS	50		