

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 1-



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Acinetobacter baumannii isolé en
réanimation :
Caractérisation phénotypique des mécanismes
de résistance aux bêtalactamines

Thèse d'exercice présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en
Pharmacie

Session : Juin 2018

Présentée par :

- HARBI Hadjila
- KADRI Hafsa

Devant le jury :

- BELOUNI.R : Professeur en microbiologie -USDB-Président
- DAHMANI.F : Maître assistante en microbiologie-USDB-.....Examinatrice
- AZROU.S : Maître assistante en microbiologie -USDB-.....Examinatrice
- BENAMARA. M : Maître assistante en microbiologie - USDB -..... Promotrice

سبحان الله العظيم
الحمد لله رب العالمين
والصلاة والسلام على
سيدنا محمد وآله الطيبين
الطاهرين

Remerciements

Nos sincères remerciements s'adressent au Dr. BENAMARA. M notre encadreur qui ne nous a jamais manqué de conseils et d'orientation pour accomplir ce travail mais qui nous a été également source de motivation et d'encouragement.

Nous remercions les membres du jury qui nous font l'honneur d'évaluer ce travail et de siéger à notre soutenance :

Nos remerciements vont tout d'abord à Monsieur le Professeur BELOUNI.R qui a accepté de présider le jury ainsi qu'aux Docteurs DAHMANI et AZROU qui ont bien voulu examiner ce travail, nous vous adressons l'expression de notre gratitude et notre respect.

Nous tenons à remercier Madame le Professeur ABDI chef service du laboratoire central du CHU Blida qui nous a ouvert les portes du laboratoire et qui a mis à notre disposition l'équipement et le matériel nécessaires à la réalisation de notre étude pratique.

Nous remercions également l'ensemble de l'équipe de l'unité de microbiologie et plus particulièrement Madame TAFET.A qui ne nous a jamais manqué de conseils et d'aide.

Nous souhaitons par ailleurs bonne continuation et bonne réussite à nos collègues ARIBI Amina et ATCHI Safa qui nous ont fourni le réactif indispensable à la réalisation de notre thèse.



Dédicaces

A la femme qui m'a donné un jour la vie, qui me donne chaque jour une raison de vivre. Que cette réussite te soit un simple cadeau car ALLAH seul sera te récompenser, Mère.

A la personne qui partage avec moi les plus petits détails de la vie et à qui je souhaite une bonne réussite, à ma sœur.

A l'esprit de l'homme qui n'était jamais absent de ma vie. Ça n'a été jamais facile sans toi mais tes filles l'ont réussi, Père.

A mon oncle Aziz qui était toujours à mes côtés. A sa petite famille. A ma famille.

A ma grand-mère, à mes tantes, à mes oncles.

A mes amies, mes sœurs.

A ceux qui ont complètement changé mon expérience universitaire. Ceux avec qui j'ai appris la valeur réelle de mes connaissances et mes compétences. Aux membres de l'association Ibn Sina.

A ceux qui m'ont donné la chance d'apprendre, qui m'ont ouvert de nouveaux horizons, à Mme. ZEMRI.R et son équipe officinale.

A la personne avec qui j'ai partagé cette année de travail et avec qui j'ai vécu d'inoubliables expériences. A mon binôme, Hadjila.

Hafsa





Dédicaces

A mes parents,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le respect et l'amour éternel que je vous porte. Vous avez toujours été le meilleur exemple à suivre pour vos qualités humaines, votre persévérance et votre sérieux. Ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma gratitude. Que Dieu le Tout Puissant puisse vous bénir, vous accorder une longue vie.

A mon cher frère Lounis,

Tu étais toujours présent pour m'aider et me soutenir, ces quelques lignes ne sauront exprimer tous les sentiments que je te porte. Je te souhaite tout le courage et tout bonheur du monde.

A ma chère sœur Silia et mon petit frère Yacine,

Pour leur encouragement permanent et leur soutien moral.

A BOUCHIBANE Chaima et BENRABAH Amina

Mon amour, mon attachement pour vous est sans limite. Je vous souhaite à travers ce travail une vie pleine de bonheur, santé et du succès.

A mon binôme Hafsa,

Je te remercie pour tous les bons moments inoubliables passés en ta compagnie. Tous mes vœux du bonheur et du succès.

À mes amis du lycée,

À ceux qui me sont les plus chers au monde. Merci pour tous les bons moments partagés ensemble.

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

Hadjila



Sommaire

Listes de tableaux.....	IX
Liste des figures	X
Listes des abréviations.....	XII
Glossaire.....	XV

Introduction	1
--------------------	---

Analyse bibliographique

Chapitre I : *Acinetobacter baumannii* : rappels bactériologiques, principaux caractères épidémiologiques et pouvoir pathogène.

1 Historique :.....	2
2 Taxonomie et classification :	2
3 Caractères phénotypiques :	3
3.1 Caractères morphologiques :	3
3.2 Caractères culturels :	3
3.3 Caractères biochimiques :	4
3.4 Caractères antigéniques :	4
4 Caractères épidémiologiques :	4
4.1 Réservoir :	4
4.2 Modes de transmission :	5
5 Pouvoir pathogène :	5
5.1 Facteurs de virulence :	5
5.2 <i>Acinetobacter baumannii</i> et infections associées aux soins :	6
5.3 <i>Acinetobacter baumannii</i> et infections communautaires :	6

ChapitreII: Mécanismes et profils d'antibiorésistance chez *Acinetobacter baumannii*

1 Mécanismes et profil de la résistance naturelle :	7
2 Mécanismes et profils de la résistance acquise :	7
2.1 Résistance acquise aux bêtalactamines :	7
2.1.1 Mécanisme enzymatique :	7
2.1.1.1 Surexpression de la céphalosporinase naturelle :	8
2.1.1.2 Pénicillinases :	8
2.1.1.3 Bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) :	8
2.1.1.4 Carbapénémases :	8
2.1.2 Mécanismes non enzymatiques :	12
2.1.2.1 Efflux actif :	12
2.1.2.2 Modification des porines :	12

2.1.2.3	Altération de l'affinité membranaire :	12
2.2	Résistance aux aminosides :	12
2.3	Résistance aux quinolones :	13
2.4	Résistance aux autres antibiotiques :	13
2.4.1	Chloramphénicol :	13
2.4.2	Triméthoprim et sulfamides :	13
2.4.3	Colistine :	13
2.4.4	Cyclines :	14
2.4.5	Rifampicine :	14
Chapitre III: La multirésistance chez <i>Acinetobacter baumannii</i>		
1	Définitions :	15
1.1	Souche multirésistante :	15
1.2	Souche ultrarésistante :	15
1.3	Souche totorésistante :	16
2	Situation épidémiologique de l'antibiorésistance chez <i>A. baumannii</i> :	17
2.1	Dans le monde :	17
2.2	En Europe :	17
2.3	Au Maghreb :	17
2.4	En Algérie :	17
Chapitre IV: Méthodes de caractérisation phénotypique des principaux mécanismes d'antibiorésistance chez <i>Acinetobacter baumannii</i>		
1	Antibiogramme par méthode de diffusion sur milieu gélosé :	18
2	Détection des mécanismes de la résistance acquise aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération :	18
2.1	Recherche des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) :	19
2.1.1	Test de synergie :	19
2.1.2	Test de confirmation ou test du double disque (Test espagnol) :	20
2.1.3	E-test :	20
2.1.4	Cica-Beta-Test :	21
2.1.5	Automates :	21
2.2	Recherche de la céphalosporinase hyperproduite :	21
2.2.1	Test à la cloxacilline :	22
3	Détection des mécanismes de résistance acquise aux carbapénèmes :	22
3.1	Détection non spécifique des carbapénémases :	23
3.1.1	Test de Hodge modifié :	23
3.1.2	Carbapenem Inactivation Method :	23

3.2	Détection spécifique des carbapénémases :	23
3.2.1	Méthodes de détection des carbapénémases de classe B d'Ambler :	23
3.2.2	Méthodes de détection des carbapénémases de la classe A d'Ambler :	24
3.2.3	Méthodes de détection des carbapénémases de la classe D d'Ambler :	24
3.3	Techniques de diagnostic rapide des carbapénémases :	24
3.3.1	Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) :	24
3.3.2	Carba NP® test :	24
4	Détection des mécanismes de la résistance acquise aux fluoroquinolones :	25
4.1	Détection de la résistance par modification du système d'efflux :	25
5	Détection des mécanismes de résistance acquise à la rifampicine :	26
Chapitre V: Approches thérapeutiques		
1	Traitement des infections dues à <i>A. baumannii</i> MDR (Sensible à l'imipénème) :	27
1.1	Associations à base de carbapénèmes :	27
1.1.1	Imipénème + tétracyclines (doxycycline et minocycline) :	27
1.1.2	Imipénème + amikacine :	28
1.2	Autres alternatives :	28
1.2.1	Sulbactam-ampicilline :	28
1.2.2	Minocycline + amikacine :	28
2	Traitement des infections dues à <i>A. baumannii</i> XDR (Résistant à l'imipénème) :	29
2.1	Associations à base de la colistine :	29
2.1.1	Colistine + rifampicine :	29
2.1.2	Colistine + acide fusidique :	30
2.1.3	Colistine + tigécycline :	30
2.1.4	Colistine + carbapénèmes :	30
2.1.5	Colistine + sulbactam :	31
2.1.6	Colistine + fosfomycine :	31
2.1.7	Colistine + daptomycine :	31
2.1.8	Colistine + triméthoprim-sulfaméthoxazole :	31
2.2	Associations à base de fluoroquinolones :	32
3	Traitement des infections dues à <i>A. baumannii</i> PDR (Résistant à la colistine) :	32
3.1	Association à base de colistine :	32
3.1.1	En bithérapie :	32
3.1.1.1	Colistine + rifampicine :	32
3.1.1.2	Colistine + glycopeptides :	32
3.1.1.3	Colistine + acide fusidique :	33
3.1.2	En trithérapie (Colistine + rifampicine + vancomycine) :	33

3.2	Doxycycline + cotriméthoxazole :.....	33
4	Perspectives thérapeutiques :.....	35
4.1	Phagothérapie :.....	35
4.2	Inhibition du transfert des plasmides :.....	35
4.3	Peptides antimicrobiens :.....	35
4.4	ARN interférents :.....	36

Partie pratique

1	Présentation de l'étude effectuée :.....	38
2	Matériels et méthodes :.....	39
2.1	Matériels :.....	39
2.2	Méthodes :.....	41
2.2.1	Caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines :.....	41
2.2.1.1	Sélection des souches :.....	42
2.2.1.2	Récupération des souches :.....	42
2.2.1.3	Régénération des souches conservées :.....	42
2.2.1.4	Caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération :.....	44
2.2.1.4.1	Test de synergie :.....	44
2.2.1.4.2	Test à la cloxacilline :.....	46
2.2.1.4.3	Test du double disque (Test espagnol) :.....	47
2.2.1.5	Caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes (Détection et typage des carbapénémases) :.....	49
2.2.1.5.1	Test de Hodge modifié :.....	49
2.2.1.5.2	Test IMP-EDTA en disque combiné :.....	51
2.2.1.5.3	Test d'inactivation du carbapénème ou Carbapenem inactivation method(CIM) :.....	52
3	Résultats :.....	55
3.1	Résultats généraux :.....	55
3.2	<i>Acinetobacter baumannii</i> : Incrimination en réanimation et sensibilité aux antibiotiques :.....	58
3.2.1	Incrimination en réanimation :.....	58
3.2.2	Résultats de l'étude de la sensibilité aux ATB des souches <i>A. baumannii</i> isolées :.....	58
3.3	Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance :.....	60
3.3.1	Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux C3G :.....	60
3.3.1.1	Résultats du test de synergie :.....	60

3.3.1.2	Résultats du test du double disque :	61
3.3.1.3	Résultats du test à la cloxacilline :	62
3.3.2	Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes :	65
3.3.2.1	Résultats du test de Hodge modifié :	65
3.3.2.2	Résultats du test d'IMP-EDTA combiné :	66
3.3.2.3	Résultats du test d'inactivation du carbapénème ou Carbapenem inactivation method (CIM) :	67
4	Discussion :	73
5	Recommandations :	77
5.1	Recommandations sur les précautions à prendre pour éviter la contamination des hémocultures :	77
5.1.1	Avant le prélèvement :	77
5.1.2	Au moment du prélèvement :	77
5.1.3	Après le prélèvement :	78
5.2	Recommandations sur la réalisation des prélèvements distaux protégés :	78
5.3	Recommandations sur l'utilisation clinique de la colistine :	79
5.4	Recommandations destinées au laboratoire de microbiologie :	80
	Conclusion.....	81
	Références	
	Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 1 Taxonomie des <i>Acinetobacter</i>	2
Tableau 2 Les caractères biochimiques d' <i>A.baumannii</i>	4
Tableau 3 Phénotypes de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> vis-à-vis des bêtalactamines.....	10
Tableau 4 Bêtalactamases produites par <i>A. baumannii</i>	11
Tableau 5 Catégories des ATB et agents ATB utilisés pour la définition des souches <i>Acinetobacter spp</i> MDR, XDR et PDR	16
Tableau 6 Listes des ATB à tester chez <i>Acinetobacter spp</i>	18
Tableau 7 Relation entre la valeur de CMI et le mécanisme de résistance probabiliste.	25
Tableau 8 Matériels non biologiques nécessaires à la réalisation de l'étude.....	39
Tableau 9 Matériels biologiques nécessaires à la réalisation de l'étude	40
Tableau 10 Profils de résistance des souches sélectionnées pour l'étude phénotypique	42
Tableau 11 Préparation des boîtes de cloxacilline	46
Tableau 13 Répartition des bactéries isolées selon les propriétés morpho-tinctoriales	56
Tableau 14 Bacilles à Gram négatif isolés	56
Tableau 15 Cocci à Gram positif isolés	57
Tableau 16 Résultats d'étude de la sensibilité aux antibiotiques	59
Tableau 17 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de la résistance aux C3G	64
Tableau 18 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux carbapénèmes	69
Tableau 19 Résultats de l'ensemble des tests phénotypiques	70
Tableau 20 Catégorisation des souches selon l'étendue de la résistance	71

Liste des figures

Figure 1 <i>Acinetobacter baumannii</i> , coloration de Gram.....	3
Figure 2 Aspect des colonies d' <i>A.baumannii</i> sur gélose au sang.	3
Figure 3 Identification d' <i>Acinetobacter baumannii</i> à l'aide d'une galerie API 20E	4
Figure 4 Modes de transmission d' <i>A.baumannii</i>	5
Figure 5 Test de synergie positif (Bouchon de champagne)	19
Figure 6 Test du double disque	20
Figure 7 E-Test BLSE positif.....	20
Figure 8 Bandelettes de Cica Beta Test.....	21
Figure 9 Antibiogramme avec et sans cloxacilline	22
Figure 10 Test de Hodge modifié.....	23
Figure 11 MALDI TOF	24
Figure 12 Carba NP test positif et négatif	25
Figure 13 Approches thérapeutiques des infections à <i>Acinetobacter baumannii</i> selon l'étendue de la résistance.....	34
Figure 14 Démarche suivie pour la détection des mécanismes de résistances aux β - lactamines	41
Figure 15 Régénération sur GN des souches <i>A. baumannii</i> conservées	43
Figure 16 Régénération sur BGT et GS des souches <i>A. baumannii</i> conservées	44
Figure 17 Réalisation du test de synergie	45
Figure 18 Préparation du milieu MH additionné de la cloxacilline	46
Figure 19 Réalisation du test à la cloxacilline.....	47
Figure 20 Réalisation du test du double disque.....	47
Figure 21 Démarche de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux C3G	48
Figure 22 Souches de référence pour le contrôle de la qualité du test de Hodge modifié	49
Figure 23 Réalisation du test de Hodge	50
Figure 24 Réalisation du test d'IMP-EDTA combiné.....	51
Figure 25 Réalisation du test d'inactivation de carbapénème	52
Figure 26 Démarche de la caractérisation des mécanismes enzymatiques de la résistance aux carbapénèmes	53
Figure 27 Répartition des prélèvements selon le type.....	55
Figure 28 Répartition des prélèvements selon le résultat des cultures.	55
Figure 29 Répartition des bactéries isolées selon l'espèce	57
Figure 30 Répartition des souches <i>A.baumannii</i> isolées selon le type de prélèvement	58
Figure 31 Résultat positif d'un test de synergie	60
Figure 32 Résultat positif d'un test du double disque.	61
Figure 33 Restauration des diamètres d'inhibition sur milieu MH additionné de la cloxacilline	62
Figure 34 Résultats de l'ensemble des tests phénotypiques de caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux C3G.....	64
Figure 35 Résultat positif d'un test de Hodge modifié	66
Figure 36 Résultat positif d'un test IMP-EDTA en disque combiné	65
Figure 37 Résultat positif d'un test CIM	67

Figure 38 Résultats de l'ensemble des tests phénotypiques effectués pour la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes.	68
Figure 39 Démarche proposée pour la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux bêtalactamines.	72

Liste des abréviations

[ACB] : Complexe *Acinetobacter calcoaceticus*- *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii : *Acinetobacter baumannii*

AARN : Réseau Algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques

ADH : Adénine déshydrogénase

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADP : Adénosine diphosphate

AES : Accident d'exposition au sang

ARN : Acide ribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

ATB : Antibiotique

Bap : Protéine associée au biofilm

BGN : Bacilles Gram négatif

BLSE : Bêtalactamase à spectre étendu

C1G : Céphalosporines de 1^{ère} génération.

C2G : Céphalosporines de 2^{ème} génération.

C3G : Céphalosporines de 3^{ème} génération.

CARB: Carbapénémase

Case: Céphalosporinase.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CHDLs: Carbapenem hydrolyzing Oxacillinases

CHLA: Carbapenem hydrolyzing class A bêtalactamase

CHN: Céphalosporinase hyperproduite.

CHU : Centre Hospitalo-universitaire

CIM : Carbapenem Inactivation Method

CGP : Cocci à Gram positif

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DIV : Dispositif intra-veineux

E. coli : *Escherichia coli*

EARS-Net : European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
ECDC : European Center for Disease Prevention and Control
EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique
ESC: Esculine
EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
FDA: Food and Drug Administration
GEL: Gélatine
GES: Guyana Extended Spectrum beta lactamase
H₂S : sulfure d'hydrogène
Hémoc : Hémoculture
I : intermédiaire
IAS : infections associées aux soins
IMP : Imipénème
IND : Indole
IS-Aba : Insertion sequence Acinetobacter
KP : *Klebsiella pneumoniae*
LCR : liquide céphalorachidien
LDC : Lysine décarboxylase
LPS : lipopolysaccharide
MAL: Maltose
MALDI-TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of Flight
MBLs: Métallo bêtalactamases
MDR: Multidrug resistant
MH: Mueller Hinton
NMP :1- (1-naphtylméthyl) -piperazine
ODC : Ornithine décarboxylase
OmpA : Protéine membranaire A
OMS : Organisation mondiale de la santé.
ONPG : Ortho-nitrophényl-β-galactoside.
OXA : Oxacillinase.
PaβN : Phényl-arginine-β-naphtylamide.

PCR : Polymerase chain reaction.

PDP : Prélèvement distal protégé.

PDR : Pandrug resistant.

PEtN : phosphoéthanolamine.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PLP : Protéines liant la pénicilline.

PAMs : Peptides antimicrobiens.

PVA : pneumonie sous ventilation assistée.

PVPI : Polyvidone iodée.

R : Résistant.

REA- RAISIN : Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales en réanimation.

RND : *Resistance nodulation cell division*.

S : Sensible.

SHV : Sulfhydryl Variable.

SCN : Staphylocoque à coagulase négative.

spp: Species.

TEM: Temoneira

TH: Test de Hodge modifié

VEB: Vietnamese Extended-spectrum Beta lactamase

VIM : Verona integron-encoded metallo- β -lactamase

VP : Voges Proskauer.

XDR: Extensively drug resistant.

β lactamines: Bêtalactames

β lactamase: Bêtalactamase.

Antibiotiques:

TIC : Ticarcilline TCC : Ticarcilline +Ac.clavulanique PIP : Pipéracilline

CAZ : Ceftazidime CIP : Ciprofloxacin LUX : Levofloxacin

GM : Gentamicine AN : Amikacine TM : Tobramycine NET : Nétilmicine

IPM : Imipénème MER : Méropénème

SXT : Triméthoprime+ sulfaméthoxazole TE : Tétracyclines CS : Colistine.

Glossaire

Abiotique : Un milieu où la vie est absente ou impossible.

Antibiorésistance : La capacité d'un organisme à résister aux effets des antibiotiques.

Apoptose : Mort cellulaire programmée, un processus suicide propre à la cellule animale, caractérisé par une fragmentation de l'ADN nucléaire.

Bactéricide : Substance qui tue les bactéries.

Bactérie aérobique stricte : Une bactérie qui ne peut vivre et se développer qu'en présence d'oxygène.

Bactérie commensale : Une bactérie qui colonise un organisme hôte (généralement la peau et les muqueuses) sans provoquer de maladie.

Bactériophage ou phage : Tout virus qui ne peut se multiplier qu'à l'intérieur des bactéries.

Bactériostatique : Substance qui arrête la multiplication des bactéries sans les tuer.

Biofilm : Une communauté multicellulaire de microorganismes adhérant entre eux et à une surface, et marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. Les biofilms jouent un rôle très important dans la survenue des IAS, notamment celles secondaires à l'implantation de matériel étranger.

Clone : Un groupe d'organismes identiques dérivés d'une même cellule. Les membres d'un même clone ont habituellement des caractéristiques héréditaires identiques.

Epidémie : Atteinte simultanée d'un grand nombre d'individus d'un pays ou d'une région par une maladie particulière dans une période limitée dans le temps.

Fimbriae : Des appendices protéiques présents chez de nombreuses bactéries Gram négatif qui sont plus fins et plus courts que ne le sont les flagelles. Ils ne sont pas capables de rotation et ne présentent pas de corps basal complexe.

Infection associée aux soins : Tout événement infectieux en rapport avec un processus, une structure ou une démarche de soins.

Infection communautaire : Toute infection acquise en dehors d'un établissement de santé, sans relation avec un soin.

Infection nosocomiale : Une infection acquise dans un établissement de santé. Elle ne doit être ni présente ni en incubation lors de l'admission. Un délai arbitraire de 48 heures entre l'admission et la survenue des symptômes infectieux est habituellement retenu. Ce délai est porté à 30 jours pour les infections du site opératoire et à un an après implantation de matériel étranger.

Infection opportuniste : Une infection due à un germe habituellement peu agressif mais dont la pathogénicité est amplifiée par un déficit immunitaire chez le malade atteint.

Intégron : Un élément génétique mobile incapable d'autoréplication qui est obligatoirement porté sur un réplicon de nature chromosomique ou plasmidique. Les intégrons constituent un système de capture et d'expression des gènes y compris les gènes d'antibiorésistance.

Lipopolysaccharide (LPS) : Molécule de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, formée d'un lipide A, d'un polysaccharide et d'une chaîne latérale O. Le LPS stabilise la structure membranaire et le lipide A est une endotoxine.

Manuportage : Transmission d'un germe d'un individu à un autre par l'intermédiaire des mains.

Méta-analyse : Une démarche scientifique systématique combinant les résultats d'une série d'études indépendantes sur un problème donné, selon un protocole reproductible. La méta-analyse permet une analyse plus précise des données par l'augmentation du nombre de cas étudiés et de tirer une conclusion globale.

Plasmide : Un ADN circulaire ou linéaire extrachromosomique à réplication autonome présent chez certaines bactéries. Il est responsable du transfert des gènes notamment d'antibiorésistance.

Pneumonie associée à la ventilation (PAV) : Une pneumonie qui se développe plus de 48 h après l'intubation des patients et leur ventilation mécanique.

Pneumonie nosocomiale : Une pneumonie qui débute chez un malade hospitalisé non intubé après 48 h d'admission.

Porine : Protéine transmembranaire des bactéries permettant le passage des ions et des autres petites molécules hydrophiles.

Réaction croisée : On parle de réaction croisée lorsqu'un même anticorps est capable de se combiner à des antigènes différents mais dont les déterminants antigéniques sont très proches.

Ribosome : Organite cytoplasmique qui permet la traduction de l'ARN messager et la synthèse des protéines. Chez les procaryotes, il est constitué de deux sous-unités : la sous-unité 30S (21 protéines et un ARNr 30S) et la sous-unité 50S (34 protéines et les ARNr 5S et 23S).

Sérovar : (également appelé sérotype) désigne une propriété antigénique permettant d'identifier une cellule (bactéries, globule rouge, etc.) ou un virus par des méthodes sérologiques.

Séquence spécifique d'insertion : La forme la plus simple d'un élément transposable, généralement de taille inférieure à 2,5kb, capable de se déplacer de façon autonome dans les génomes microbiens et ne codent que pour leur propre transposition. Elle ne constitue pas elle-même un support de l'antibiorésistance mais est susceptible d'interférer dans la régulation de certains mécanismes qui y sont impliqués.

Taxonomie : Science de la classification des êtres vivants.

Transposon : Un segment d'ADN mobile, n'ayant pas d'existence autonome stable, responsable de la transmission de gènes dont les gènes d'antibiorésistance.

Ubiquitaire : Une espèce qui peut se développer dans des habitats variés.

Virulence : Une notion quantitative qui correspond à la capacité propre d'un micro-organisme de causer une maladie plus ou moins sévère et/ou plus ou moins rapide chez un hôte.

Introduction

Introduction

Acinetobacter baumannii est un bacille à Gram négatif opportuniste responsable d'infections nosocomiales le plus souvent dans des services accueillant des patients fragilisés comme celui de la réanimation. Il représente un problème majeur de santé dans les établissements hospitaliers tant en termes de mortalité ou de morbidité induites qu'en termes de coûts financiers. (Robertino M et al, 2010).

Cette bactérie type du genre *Acinetobacter* se caractérise par une évolution impressionnante de la résistance aux antibiotiques en termes de rapidité et de diversité des mécanismes et de matériels génétiques mis en jeu. Plusieurs familles d'antibiotiques, notamment les bêtalactamines, les aminosides et les fluoroquinolones sont désormais quasi-inefficaces sur *A. baumannii*. (A.M. Gonzalez-Villoria et V. Valverde-Garduno, 2016).

Le mécanisme enzymatique est le mécanisme majeur de résistance aux bêtalactamines chez *Acinetobacter baumannii*. Les β -lactamases à large spectre jouent un rôle important dans la résistance aux céphalosporines de troisième génération. Des carbapénémases ont été décrites chez *A. baumannii* ce qui est très inquiétant du fait que ces enzymes hydrolysent les carbapénèmes qui constituent le traitement du choix pour cette bactérie. (Delbos, 2012 ; S. Marzieh et al, 2015)

La survie d'un patient souffrant d'une infection à *Acinetobacter multirésistant* est complètement conditionnée par une initiation précoce d'une antibiothérapie efficace. (Wong D et al, 2017) Mais devant une épidémiologie marquée par une augmentation étonnante des prévalences des souches multi, ultra et totorésistantes dans le monde entier, les options thérapeutiques sont limitées pour les patients et les cliniciens se retrouvent ainsi obligés d'avoir recours à des molécules plus anciennes, comme la colistine, tout en optimisant leur utilisation pour éviter l'émergence des résistances à ces molécules de dernière ligne. (Dheepa M et al, 2016)

Pour affronter le problème de dissémination de cette bactérie pathogène multirésistante, il est d'abord nécessaire de mesurer l'ampleur de cette dissémination et en apprécier l'impact. La présente étude porte essentiellement sur la mise en évidence de la place d'*A. baumannii* et d'*A. baumannii* multirésistant parmi les étiologies bactériennes des infections acquises en réanimation polyvalente du CHU de Blida unité FRANTZ Fanon et l'élucidation des mécanismes d'antibiorésistance par leur détection et leur caractérisation phénotypique ainsi qu'à la proposition de schémas thérapeutiques selon l'étendue de la résistance.

Analyse bibliographique

Chapitre I

Acinetobacter baumannii :

Rappels bactériologiques, principaux
caractères épidémiologiques et rôle
pathogène.

Chapitre I

Acinetobacter baumannii : Rappels bactériologiques, principaux caractères épidémiologiques et rôle pathogène.

1 Historique :

L'histoire du genre *Acinetobacter* a débuté en 1911 avec la découverte par le microbiologiste Néerlandais Beijerinck d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* à partir de prélèvement de sol (Beijerinck, 1911). Durant les quatre décennies qui ont suivi, différents scientifiques ont découverts au moins 15 genres et espèces bactériennes auxquels ils ont attribué des noms distincts malgré qu'il s'agissait du même organisme. (Howard A et al, 2012 ; Euzebu, 2003 ; Zarrilli R, 2016)

Avec les études biochimiques comparatives approfondies menées par Baumann et al, le genre *Acinetobacter* a été finalement retenu et reconnu par le comité de la nomenclature des bactéries dans la taxonomie de Moraxella en 1971 (E. F. Lessel et al, 1971). En 1986, *Acinetobacter baumannii* a été reconnu suite à l'étude de Bouvet et Grimont qui ont identifié 12 espèces dont *A. baumannii* qu'ils ont nommé en l'honneur des biologistes américain Paul et Linda Baumann. (Skerman V et al, 2017)

2 Taxonomie et classification :

Le genre *Acinetobacter*, de la famille des Moraxellaceae englobe, actuellement 25 espèces auxquelles un nom officiel a été donné (Parte AC, 2016) et d'autres sont reconnus sans attribution d'un nom officiel (Joly-Guillou M-L et al, 2013 ; Nemec A et al, 2011). Certaines espèces sont très proches les unes des autres et il est difficile de les distinguer phénotypiquement. En raison de leur haute ressemblance, le terme de complexe *Acinetobacter calcoaceticus*-*A. baumannii* [ACB] a été créé par Gerner-Smidt et al pour regrouper quatre espèces : *Acinetobacter calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter pittii* et *Acinetobacter nosocomialis*. (Joly-Guillou M-L et al, 2013)

Tableau 1 Taxonomie des *Acinetobacter* (Rossau R et al, 1991)

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

3 Caractères phénotypiques :

3.1 Caractères morphologiques :

A l'examen direct, *A. baumannii* se présente comme un bacille ou un coccobacille à Gram négatif, souvent associé par deux. Son diamètre varie de 0.9 à 1.6 μm et sa longueur de 1.5 à 2.5 μm . (Guillou J et al, 2002)

La bactérie est immobile, mais peut se déplacer grâce à des structures polaires ressemblant à des fimbriae de 5 nm de diamètre et de 10 à 15 nm de longueur. (Fechkeur Y et Thibault M, 1998)

Elle est non sporulée et en général très polymorphe avec des formes filamenteuses dans les cultures âgées. (Guillou J et al, 2002)

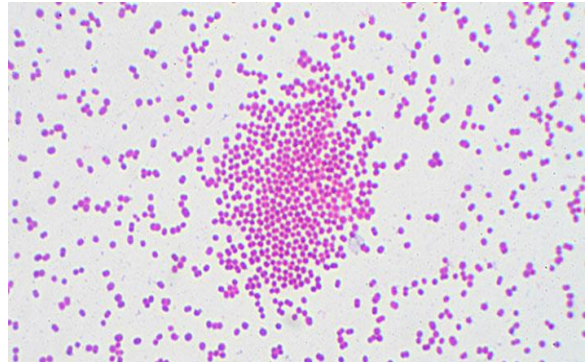


Figure 1 *Acinetobacter baumannii*, coloration de Gram. (Jasna Hrenovic, 2015)

3.2 Caractères cultureux :

les bactéries du genre *Acinetobacter* cultivent sur les milieux non sélectifs habituels (gélose trypticase soja, gélose nutritive), à une température de 30-37°C (*A. baumannii* est la seule espèce à croître à 44°C). Leur isolement est possible sur les milieux sélectifs des bactéries Gram négatif (Drigalski, Mac Conkey...). Un pH compris entre 5,5 et 6 favorise leur croissance. Les colonies sont rondes, légèrement convexes, lisses et de couleur jaune pâle à grisâtre. (Avril et al, 2006 ; H. Giamarellou et al, 2008)



Figure 2 Aspect des colonies d'*A.baumannii* sur gélose au sang. (Originale)

3.3 Caractères biochimiques :

Les *Acinetobacter* sont des aérobies stricts, non fermentant, catalase positive, oxydase négative, lactose négatif, incapable de réduire le nitrate en nitrites et ne fermentent pas le glucose. (Avril et al, 2006 ; Gillespie et Hawkey, 2006)

En pratique une galerie d'identification API20NE (identifie des BGN non exigeantes sauf les entérobactéries) est utilisée pour l'identification des espèces. (F. Denis et al, 2016). L'utilisation d'une galerie AP 20E permet également une identification aisée d'*A.baumannii* grâce aux résultats des tests d'assimilation de 3 sucres (Glucose, melibiose et arabinose) qui reviennent tous les trois positifs.

Tableau 2 Les caractères biochimiques d'*A.baumannii*. (Gillespie et Hawkey, 2006)

Tests	ADH	ONPG	GEL	H2S	IND	MAL	LDC	ODC	Urée	VP	ESC
Résultats	-	-	-	-	-	+/-	-	-	+	-	-



Figure 3 Identification d'*Acinetobacter baumannii* à l'aide d'une galerie API 20E. (Originale)

3.4 Caractères antigéniques :

Acinetobacter est complexe du point de vue de sa structure antigénique de surface. Plusieurs séries de travaux ont mis en évidence des groupes sérologiques différents dont 34 sérovars ont été proposés ; toutefois, l'identification antigénique n'a pas d'intérêt pratique. (Avril JL et al, 2006 ; C. PRESCOTT et al, 2003 ; F. Denis et al, 2016)

4 Caractères épidémiologiques :

4.1 Réservoir :

Bien que la plupart des espèces du genre *Acinetobacter* soient ubiquitaires (sol, eau, végétaux, hommes), *Acinetobacter baumannii* n'a pas de réservoir naturel connu en dehors de l'hôpital (Peleg AY et al, 2008 ; F. Denis et al, 2016). Lors des épidémies hospitalières, *A. baumannii* est retrouvé dans l'environnement clinique immédiat du malade (appareils de ventilation, lit, tables...) et dans l'environnement humide (siphons de lavabo, linge humide...)

ainsi que sur les mains des soignants. En effet, ce germe possède une capacité de survie prolongée dans l'environnement, il résiste longtemps dans des conditions environnementales variées et résiste bien à la dessiccation. (Wendt C et al, 1997)

4.2 Modes de transmission :

A. baumannii a la faculté de coloniser beaucoup de matériel hospitalier (respirateurs, humidificateurs). Il est le plus souvent transporté par les mains du personnel soignant et la majorité des infections sont acquises au décours d'une hospitalisation. (F. Denis et al, 2016)

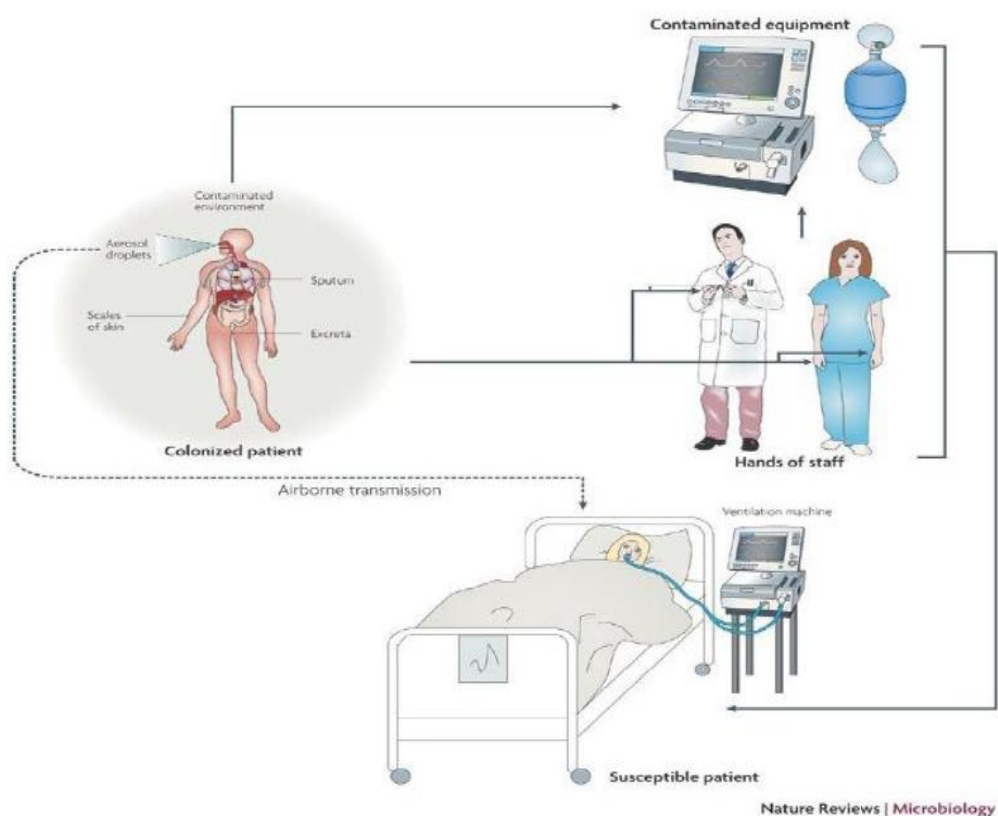


Figure 4 Modes de transmission d'*A.baumannii*. (H. Hans, 2000)

5 Pouvoir pathogène :

Acinetobacter baumannii est un agent opportuniste incriminé dans différentes infections notamment en milieu hospitalier (Ong CWM et al, 2009). Les taux de mortalité de ces infections sont considérablement variables (entre 8% et 35% en moyenne) et sont relatifs à la souche en cause et au type de l'infection. (Luisa C.S et al, 2014)

5.1 Facteurs de virulence :

La pathogénicité d'*Acinetobacter baumannii* est liée à l'expression de plusieurs facteurs de virulence dont la protéine membranaire A (OmpA), la formation de biofilm et la synthèse des phospholipases.

- L'OmpA permet l'adhésion de la bactérie aux cellules épithéliales de l'hôte et induit après sa pénétration (via un mécanisme qui reste inconnu) une apoptose cellulaire. Elle est également impliquée dans la résistance aux antibiotiques. (Smani et al, 2014)
- La formation d'un biofilm permet à *Acinetobacter baumannii* d'adhérer aux surfaces abiotiques, et résister ainsi au bionettoyage et aux désinfectants, et de coloniser les surfaces biologiques. (Vickery K et al, 2012) Alors que les pilis s'attachent à la surface et initient la formation de microcolonies, une protéine associée au biofilm (Bap) assure le maintien et la maturation du biofilm. (Aoife Howard et al, 2012)
- *Acinetobacter baumannii* produit deux phospholipases responsables de la perturbation des membranes cellulaires de l'hôte par leur activité lipolytiques. La phospholipase C qui est probablement impliquée dans le déclenchement d'une apoptose des cellules épithéliales et la phospholipase D est importante pour la résistance à la destruction du sérum et à l'invasion des cellules épithéliales. (Richards et al, 2015)

5.2 *Acinetobacter baumannii* et infections associées aux soins :

A. baumannii a été reconnu depuis les années 1980 comme un agent responsable des infections associées aux soins (IAS) notamment au sein des services de soins intensifs. (Boukhalfa S et al, 2014)

Il est à l'origine de méningite secondaire, des infections de la peau et des tissus mous, des plaies et des voies urinaires. Cependant, les infections les plus graves, avec les taux de mortalité les plus élevés sont la pneumonie sous ventilation assistée (PVA) et les bactériémies. (Gustavo M. Cerqueira et Anton Y. Peleg, 2011)

5.3 *Acinetobacter baumannii* et infections communautaires :

Les infections communautaires à *A. baumannii* sont moins fréquentes que les IAS et sont principalement des pneumonies (représentant 85% des cas d'infections communautaires causées par *A. baumannii*) et des bactériémies. Ce pathogène peut être également mis en cause dans des infections de la peau, des tissus mous, des infections oculaires, des méningites secondaires et des endocardites.

La pneumonie d'origine communautaire à *A. baumannii* est plus grave que la pneumonie nosocomiale. Elle est généralement fulminante (décès dans les 8 jours suivant le diagnostic) et ses taux de mortalité peuvent atteindre 60%. (Luisa C.S et al, 2014)

Chapitre II

Mécanismes et profils d'antibiorésistance chez *Acinetobacter baumannii*

Chapitre II

Mécanismes et profils d'antibiorésistance chez

Acinetobacter baumannii

Acinetobacter baumannii se caractérise par son étonnante capacité d'accumuler rapidement divers mécanismes de résistance aux différentes familles d'antibiotiques notamment aux bêtalactamines, aminosides et fluoroquinolones. Ces résistances sont principalement liées à l'acquisition d'éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, intégrons). (A.M. Gonzalez-Villoria et V. Valverde-Garduno, 2016).

1 Mécanismes et profil de la résistance naturelle :

Trois mécanismes sont responsables de la résistance aux antibiotiques chez les souches sauvages d'*Acinetobacter baumannii* :

- Un mécanisme enzymatique qui implique une céphalosporinase intrinsèque AmpC médiant la résistance aux aminopenicillines (ampicilline et amoxicilline) , aux céphalosporines de 1^{ère} génération (C1G) (cefazoline, céfalotine, cefalexine, cefradine) et aux céphalosporines de 2^{ème} génération (C2G) (Céfamandole, céfoxitine et céfuroxime). (P. Caurvalin et R. LECREQ, 2012)
Une oxacillinase naturelle OXA-51 d'une faible activité carbapénémase a été également détectée chez les espèces du complexe [ABC]. Elle est codée par le gène chromosomique *bla_{OXA-51} like*. (Gniadek TJ et al, 2016)
- Une imperméabilité naturelle due au faible nombre de porines.
- Un système d'efflux actif lié à la présence d'une pompe à efflux AdeIJK appartenant au système *resistance nodulation cell division* (RND) naturellement active sur un large nombre d'antibiotiques, notamment le chloramphénicol et le triméthoprim.

Le profil de résistance naturelle d'*Acinetobacter baumannii* est donc le suivant : Aminopenicillines, C1G, C2G, la fosfomycine, triméthoprim, l'ertapenème, acide pipémidique, norfloxacine, furanes et une faible sensibilité à l'aztréonam. (M.L. Joly-Guillou et D. Decré, 2013)

2 Mécanismes et profils de la résistance acquise :

2.1 Résistance acquise aux bêtalactamines :

La résistance acquise aux bêtalactamines chez *A. baumannii* est dominée par la synthèse des bêtalactamases mais des mécanismes non enzymatiques de résistance ont été mis en évidence.

2.1.1 Mécanisme enzymatique :

2.1.1.1 Surexpression de la céphalosporinase naturelle :

La surexpression de la céphalosporinase naturelle AmpC est liée à l'insertion d'une séquence spécifique d'insertion appelée ISAbal en amont du gène *bla_{ampC}* et induit une résistance additionnelle aux ureidopenicillines (pipéracilline) et aux céphalosporines de 3^{ème} génération C3G (céftazidime, céféxime, céfotaxime, céftriaxone, ...).

Ces souches restent sensibles aux : carbapénèmes, ticarcilline et à la céfépime. (T. NAAS et P. NORDMAN, 2012)

2.1.1.2 Pénicillinases :

Les pénicillinases sont des bêtalactamases de la classe A d'Ambler. Il s'agit principalement de l'enzyme TEM-1 et moins fréquemment TEM-2, CARB-5 et SCO-1. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, pipéracilline). (M.L. Joly-Guillou et D. Decré, 2013).

Lorsqu'elles sont présentes chez des souches *Acinetobacter baumannii* surexprimant leur céphalosporinase naturelle, toutes les bêtalactamines sont inactivées à l'exception des carbapénèmes. (T. NAAS et P. NORDMAN, 2012)

2.1.1.3 Bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) :

Les BLSE sont des bêtalactamases de la classe A d'Ambler, inhibées par l'acide clavulanique. (Hakemi Vala M et al, 2014). Chez *Acinetobacter baumannii*, elles confèrent une résistance à toutes les bêtalactamines sauf les carbapénèmes. Plusieurs BLSE comme PER-1, PER-7, VEB-1, TEM-92, CTX-M-2, SHV-12 SHV-5 et CTX-M-15 ont été identifiées ponctuellement ou chez des souches épidémiques. (D. DECRE et 2012)

2.1.1.4 Carbapénémases :

La production de carbapénémases chez *A. baumannii* est un mécanisme très inquiétant à cause de la prévalence élevée de ces enzymes, leur transmission facile *via* des éléments génétiques mobiles et l'association de leurs gènes codants à des gènes médiant la résistance à des ATB appartenant aux autres classes. (Gniadek TJ et al, 2016)

Les carbapénémases acquises appartiennent aux différentes classes d'Ambler :

- a- Les enzymes appartenant à la classe D (Carbapenem hydrolyzing Oxacillinases CHDLs) : les OXA-23 et dérivés (OXA-27, OXA-49 et OXA-73) ; OXA-24/40 et dérivés (OXA-25, OXA-26 et OXA-72) ; OXA-58 et variants -96 et -97, et la OXA-143 sont les carbapénémases acquises les plus spécifiques de l'espèce *A. baumannii*. Elles sont responsables d'une résistance de degré variable aux carbapénèmes et une très faible résistance aux C3G.
- b- Les métallo bêtalactamases MBLs (de la classe B d'Ambler) sont moins fréquentes que les CHDLs mais confèrent une activité catalytique 100 à 1000 fois plus importante. 3

groupes de ces enzymes ont été détecté chez *A. baumannii* : IMP ; VIM et SIM. Elles sont responsables d'une résistance à toutes les bêtalactamines sauf l'aztréonam.

- c- Les enzymes la classe A (*Carbapenem hydrolyzing class A betalactamase* CHLA) : deux carbapénémases de cette classe ont été identifiées chez *A. baumannii* ; une KPC qui confère une résistance à toutes les bêtalactamines sauf les céphamycines et la GES-14 responsable d'une résistance à large spectre comprenant les carbapénèmes. (T. NAAS et P. NORDMAN, 2012)

Tableau 3 Phénotypes de résistance d'*Acinetobacter baumannii* vis-à-vis des bêtalactamines. (D. Decré, 2012)

Antibiotique	Phénotype 1 sauvage	Phénotype 2 pénicillinase	Phénotype 3 Céphalosporinase	Phénotype 4 Pénicillinase et Céphalosporinase	Phénotype 5 Carbapénémases	Phénotype 6 BLSE
Ampicilline	S/I/R*	R	R	R	R	R
Amoxi+Clavulanate	S/I/R	S/I/R	R	R	R	I/R
Ticarcilline	S	R	S/I	R	R	R
Tic+ Clavulanate	S	S/I/R	S/I	R	R	I/R
Pipéracilline	S	R	R	R	R	R
Pip + Tazobactam	S	S/I/R	S/I	I/R	R	I/R
Céfotaxime	S	S	R	R	R	R
Céftazidime	S	S	I/R	I/R	R	R
Céfépime	S	S	I/R	I/R	R	R
Imipénème	S	S	S	S	I/R	S
Méropénème	S	S	S	S	I/R	S
Aztréonam	S/I	S/I	R	R	I/R	R

*Le niveau d'expression de l'AmpC est variable chez les souches *A. baumannii* sauvages, à l'origine des différences de sensibilité à l'antibiogramme.

Tableau 4 Bêtalactamases produites par *A. baumannii*. (M.L. Joly-Guillou et D. Decré, 2013).

Classification d'Ambler	Type d'enzyme	Spectre d'activité
Classe A (Sérine bêtalactamase)	TEM-1 TEM-2 CARB-5 SCO-1	Résistance aux pénicillines + C1G
	CTX-M-1 CTX-M-15 TEM-92 VEB-1 PER-1 SHV-12	Résistance à toutes Bêtalactamines sauf céphamycines et carbapénèmes
	GES-11 GES-14	Résistance aux carbapénèmes et C3G
	KPC-2, -3, -4, -10	Résistance à toutes les bêtalactamines
Classe B (Métallo bêtalactamase)	IMP-1, -2, -4, -5, -6, -11 VIM-2, -4 SIM-1 NDM-2	R à toutes les bêtalactamines sauf aztréonam
Classe C (Sérine bêtalactamase)	AmpC+ISAb1	Résistance à l'ampicilline, C1G, C2G (bas niveau) Résistance aux C3G, pipéracilline, +/- Ticarcilline (haut niveau)
Classe D (Sérine bêtalactamase)	OXA-21	Résistance à l'ampicilline, ticarcilline, pipéracilline
	OXA-23, -27, -49	Résistance à toutes bêtalactamines carbapénèmes incluses
	OXA-51, -66, -69	Pas d'activité apparente (sauf si ISAb1)
	OXA-24, -25, -26, -37, -40, -72	Résistance à toutes bêtalactamines carbapénèmes incluses
	OXA-58	Résistance à toutes bêtalactamines carbapénèmes incluses
	OXA-143	Résistance aux pénicillines + carbapénèmes

2.1.2 Mécanismes non enzymatiques :

2.1.2.1 Efflux actif :

Des pompes à efflux actif de la famille RND ont été identifiées chez *Acinetobacter baumannii* comme responsables de la multirésistance :

- La pompe AdeABC est responsable de la résistance aux bêtalactamines y compris les carbapénèmes. Elle confère également une résistance aux aminosides, à la tétracycline, à l'érythromycine, au chloramphénicol, au triméthoprim et aux fluoroquinolones.
- La surexpression de la pompe AdeIJK contribue à la résistance aux bêtalactamines, au chloramphénicol, à la tétracycline, à l'érythromycine, aux lincosamides, aux fluoroquinolones, à l'acide fusidique, la novobiocine, la rifampicine, le triméthoprim, l'acridine, la safranine, la pyronine et le dodécylsulfate de sodium. (L. Damier-Piolle et al, 2008)

2.1.2.2 Modification des porines :

La membrane externe de *Acinetobacter baumannii* est naturellement moins perméable aux antibiotiques que les autres bactéries Gram négatif. Cette imperméabilité est expliquée par un nombre diminué et une taille réduite des porines. (Jordi Vila et al, 2007).

La diminution de l'expression de certaines porines comme le CarO, Omp22-23, Omp33-36, Omp37, Omp43, Omp44 et Omp47 est associée à une résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii*.

La porine OmpA est associée à la résistance à l'aztréonam mais également au chloramphénicol et à l'acide nalidixique.

La perte de la porine Omp29 chez les souches d'*Acinetobacter baumannii* produisant OXA-51 ou OXA-23 est en relation avec une résistance à l'imipénème. (Lee C-R et al, 2017)

2.1.2.3 Altération de l'affinité membranaire :

Des altérations au niveau des protéines liant la pénicilline (PLP) ont été démontré responsables d'une résistance de bas niveau aux carbapénèmes chez *Acinetobacter baumannii*. (P. Nowak et P. Paluchowska, 2016)

Parmi les sept PLPs qui ont pu être identifiées chez *A. baumannii* (PLP1a, PLP1b, PLP2, PLP3, PLP5/6, PLP6b et PLP7/8) seule la PLP6b a été mise en cause chez une souche résistante à ces ATB. (M.L. Joly-Guillou et D. Decré, 2013)

2.2 Résistance aux aminosides :

La résistance aux aminosides chez *A. baumannii* est liée à 3 mécanismes différents :

- Un mécanisme enzymatique :

La production des enzymes inactivatrices est le principal mécanisme de résistance de *Acinetobacter baumannii* aux aminosides. (M.L. Joly-Guillou et D. Decré, 2013)

Ces enzymes sont principalement des acétyltransférases, des adénylases et des phosphotransférases. Elles sont codées par des gènes plasmidiques portés dans les intégrons de la classe 1. (Anton Y. Peleg et al, 2008)

- Une modification de la cible ribosomale :

Une méthylation de l'ARNr 16S catalysée par des ARN16S méthylases notamment l'ArmA, est responsable de l'altération de la liaison de l'aminoside à son site cible et confère par conséquence une résistance élevée à tous les antibiotiques cliniquement utiles de cette famille, y compris la gentamicine, tobramycine et amikacine. (Yohei Doi et al, 2015)

- Un système d'efflux actif :

Des pompes de type AdeABC et AdeM sont responsables de la résistance de *Acinetobacter baumannii* aux aminosides. (M.L. Joly-Guillou et D. Decré, 2013)

2.3 Résistance aux quinolones :

Les mécanismes de résistance aux quinolones chez *Acinetobacter baumannii* sont liés à :

- Une modification de la cible suite à une mutation des gènes *gyrA* et *parC* codant respectivement pour l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. (Higgins, P. G et al, 2004)
- Des systèmes d'efflux qui font intervenir les pompes à efflux AdeABC et AdeM. (Damier L et al, 2008)

2.4 Résistance aux autres antibiotiques :

2.4.1 Chloramphénicol :

La résistance des *Acinetobacter spp* est due à :

- L'inactivation enzymatique par les protéines Chloramphénicol acétyltransférase (*Cat*) ;
- Un mécanisme assimilé à de l'efflux médié par des protéines *Cml* codées par des intégrons de la classe1. (T. LAMBERT, 2012)

2.4.2 Triméthoprim et sulfamides :

Les espèces *Acinetobacter spp* sont naturellement résistantes à des niveaux variables au triméthoprim.

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* hospitalières hébergent fréquemment des plasmides ou des transposons portant des gènes *dfr* le plus souvent contenus dans des cassettes ou des intégrons ou surexpriment le système d'efflux AdeFGH.

La résistance aux sulfamides est médiée par le gène *sul1* porté par des intégrons de la classe1. (T. LAMBERT, 2012)

2.4.3 Colistine :

La colistine est un antibiotique bactéricide, agissant directement au niveau de la membrane bactérienne en déstabilisant le lipopolysaccharide (LPS) ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité de l'enveloppe cellulaire, une fuite du contenu cytoplasmique puis une rupture membranaire et mort du pathogène. (Matthew E. et al, 2005)

La résistance à la colistine chez *Acinetobacter baumannii* est liée à une modification quantitative ou qualitative des LPS membranaires :

- La modification quantitative : Il s'agit d'une perte complète du LPS empêchant l'interaction entre la colistine et l'*A.baumannii* et entraînant une résistance de haut niveau. (Alejandro Beceiro et al, 2014)
Ce mécanisme de résistance est lié à des altérations de type délétion, substitution d'acides aminés ou insertion d'une séquence ISAbal au niveau des gènes lpxA, lpxC et lpxD de la voie de biosynthèse du lipide A. (Kwan Soo Ko, 2017)
- La modification qualitative la plus fréquente est l'addition du groupement cationique phosphoéthanolamine (PetN) au lipide A du LPS. Cette addition supprime la charge négative de la membrane externe ce qui induit une diminution de l'affinité de la colistine à sa cible. Elle est médiée par des mutations du gène PmrAB. (Rafael Lopez, 2013 ; Poirel et al, 2017)

2.4.4 Cyclines :

La résistance aux tétracyclines chez *A. baumannii* est moins marquée relativement aux autres bactéries à Gram négatif. Elle est liée principalement à la protection de la cible(ribosome) par la production d'une protéine protectrice favorisant l'excrétion active des tétracyclines. Cette protéine est codée par le gène tetM qui présente une homologie structurale de 100% avec le gène décrit chez *Staphylococcus aureus* suggérant un transfert des gènes. (D. Décré, 2012)

2.4.5 Rifampicine :

Le mécanisme majeur de la résistance à la rifampicine chez *Acinetobacter baumannii* est une modification de la cible par des substitutions des acides aminés au niveau de la sous-unité β de la ARN polymérase, protéine cible de l'ATB. Un mécanisme enzymatique par production d'une ADP ribosyltransférase modifiant la rifampicine et un système d'efflux actif diminuant sa concentration intracellulaire ont été également décrits chez ce pathogène. (J. A. Viehman et al, 2014)

Chapitre III

La multirésistance chez *Acinetobacter baumannii*

Chapitre III

La multirésistance chez *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii multirésistant (MDR) a rapidement émergé dans le monde entier comme l'une des principales bactéries multirésistantes (BMR) responsables d'infections nosocomiales.

En 2013, le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) a signalé *Acinetobacter baumannii* MDR comme un 'danger' pour la santé publique aux Etats Unis (USA). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) à son égard a nommé *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes comme un agent pathogène prioritaire nécessitant une recherche et un développement de nouveaux ATB.

1 Définitions :

Une souche bactérienne multirésistante se définit, dans le strict sens du mot, comme résistante *in vitro* à plus de trois (3) familles d'antibiotiques. Différents termes (comme multirésistant, ultrarésistant ou totorésistant) sont utilisés pour caractériser plus spécifiquement l'étendu de la multirésistance. Chez les bactéries impliquées dans les infections associées aux soins, y compris *Acinetobacter baumannii*, ces termes font référence à des définitions d'une importante diversité selon les auteurs et les études. (Magiorkos et al 2012)

Des définitions harmonisées, à l'usage des laboratoires cliniques, de référence et de santé publique, ont été proposées par un groupe de travail réunissant les experts de CDC à ceux de European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). Elles utilisent les termes multirésistant, ultrarésistant et totorésistant pour caractériser les souches *Acinetobacter spp* comme suit :

1.1 Souche multirésistante :

Une souche d'*Acinetobacter spp* est dite multirésistante ou multidrug resistant (MDR) lorsqu'elle présente une non-susceptibilité acquise à au moins un ATB dans au moins trois des catégories listées dans le tableau 05 (p 16). En pratique clinique, une souche *A. baumannii* MDR est une souche résistante à plus de 2 classes d'ATB de la liste suivante : C3G (ceftazidime et céfépime), l'association ampicilline-sulbactam, fluoroquinolones et aminosides. (Magiorkos et al, 2012 ; S. B. Almasaudi, 2016)

1.2 Souche ultrarésistante :

Une souche d'*Acinetobacter spp* ultrarésistante ou Extensively drug resistant (XDR) se définit comme une souche qui présente une non-susceptibilité acquise à au moins un ATB dans chaque catégorie à l'exception d'une ou deux parmi elles. Elles sont généralement des souches MDR ayant acquis une résistance additionnelle aux carbapénèmes. (Magiorkos et al, 2012 ; S. B. Almasaudi, 2016)

1.3 Souche totorésistante :

Une souche totorésistante ou Pandrug resistant (PDR) se définit comme non-susceptible à tous les agents dans toutes les catégories d'ATB. Autrement dit, c'est une XDR ayant acquis une résistance aux polymyxines et à la tigécycline. (Magiorkos et al, 2012 ; S. B. Almasaudi, 2016)

Pour les trois définitions, la non-susceptibilité fait référence soit à un résultat résistant ou intermédiaire obtenu par les tests de sensibilité aux antimicrobiens *in vitro*, selon les recommandations Clinical and Laboratory Standards Institut (CLSI), European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ou Food and Drug Administration (FDA).

Tableau 5 Catégories des ATB et agents ATB utilisés pour la définition des souches *Acinetobacter spp* MDR, XDR et PDR (Magiorkos et al, 2012)

Catégorie des antibiotiques	Antibiotiques
Aminosides	Gentamicine Tobramycine Amikacine Netilmicine
Carbapénèmes	Imipenème Meropeneme Doripeneme
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine Levofloxacine
Penicillines associés aux inhibiteurs des beta lactamases	Pipéracilline–tazobactam Ticarcilline – acide clavulanique
Céphalosporines à large spectre	Céfotaxime Ceftriaxone Ceftazidime Céfépime
Inhibiteurs de la voie des folates	Triméthoprime- sulfamethoxazole
Polymyxines	Colistine Polymyxines B
Tétracyclines	Doxycycline Tétracycline Minocycline

2 Situation épidémiologique de l'antibiorésistance chez *A. baumannii* :

2.1 Dans le monde :

Une méta-analyse sur la prévalence mondiale de l'antibiorésistance dans les infections à *A. baumannii* a démontré une augmentation rapide et importante des taux des souches résistantes aux ATB entre 2011 et 2016.

Durant la période allant de 2011 à 2016, ces souches présentaient des prévalences élevées de résistance à l'imipénème dans différents pays : 52% aux USA, 92% au Vietnam, 82% en Iran, 85% en Inde et de 82% au Mexique. (Xie et al, 2018)

Des taux mondiaux globaux de résistance à la colistine de 0,9% à 3,3% ont été enregistrés chez *A. baumannii* entre 2001 et 2011. (K. Jeannot et al, 2017)

2.2 En Europe :

En 2016, plus de la moitié (55,4%) des *Acinetobacter spp* déclarés à European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) étaient résistants à au moins un des groupes d'antibiotiques sous surveillance régulière (fluoroquinolones, aminosides et carbapénèmes) et 31.7% ont été signalés résistants aux 3 groupes simultanément.

La Croatie, la Lituanie et la Roumanie enregistraient les taux les plus élevés avec (respectivement) : 94.5%, 81.6% et 85% de résistance aux carbapénèmes et 94.9%, 87.4% et 91.1% aux fluoroquinolones. (EARS-Net)

La Grèce est également un des pays européens enregistrant des taux annuels trop élevés de souches *A. baumannii* résistantes et multirésistantes. En 2017, les souches isolées en réanimation des hôpitaux grec étaient à 98.1% résistantes à l'imipénème, 92.6% à la céftazidime et 97.4 % à la ciprofloxacine. 92.3% de ces souches étaient des MDR. (WHONET Greece)

Les taux de résistance à la colistine sont également non négligeables dans le continent European. Les données de EARS-NET, en 2016, montrent un taux de résistance égal à 4%, pour 2765 souches isolées entre 2013 et 2016, dans 11 pays européens. Les taux les plus élevés ont été enregistrés en Grèce et en Italie avec un pourcentage de 70.7%.

2.3 Au Maghreb :

Au Maroc ; une étude au niveau de l'hôpital militaire de Meknès a rapporté les taux suivants de résistance chez *A. baumannii* : 85% des souches isolées étaient résistantes à la ceftazidime et à la céfépime, 72.5% à l'imipénème et 75.5% à la ciprofloxacine. 50% de ces souches étaient des MDR dont 45% provenaient de service de réanimation. (Wafi. S 2017)

2.4 En Algérie :

Selon le 17^{ème} rapport du réseau Algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques (AARN), les souches *Acinetobacter spp* testées en 2016, par les laboratoires membres d'AARN ont montré les taux suivants de résistance : 80.5% à la céftazidime, 78.5% à la ciprofloxacine, 67.68% à l'imipénème et 1.05% à la colistine. Les services de réanimation et de chirurgie générale présentent les taux les plus élevés de résistance, avec respectivement un pourcentage de 72.20% et de 74.13% de résistance à l'imipénème. (AARN 2018)

Chapitre IV

Méthodes de caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques

Chapitre IV

Méthodes de caractérisation phénotypique des principaux mécanismes d'antibiorésistance chez *Acinetobacter baumannii*

Un test phénotypique (par opposition à un test génotypique) est un test conventionnel qui mesure le phénotype de résistance, en rendant des résultats quantitatifs (CMI) ou qualitatifs (expression des enzymes) fondés sur des caractères observationnels. (C. Billy, 2003)

La caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques a un intérêt majeur dans la surveillance de la prévalence et de la diffusion géographique des clones épidémiques, la mise en place des mesures du contrôle de dissémination de ces clones et dans le choix d'un schéma thérapeutique approprié. (N. Grall et al, 2011 ; Marie-L J-G ,2004 ; F. Denis et al, 2016)

1 Antibiogramme par méthode de diffusion sur milieu gélosé :

Le principe de l'antibiogramme consiste à placer la culture bactérienne en présence des antibiotiques qui diffusent à partir des disques, en créant un gradient de concentration et à comparer, après 24h d'incubation, les diamètres d'inhibition aux valeurs critiques, pour catégoriser les souches en souches sensibles(S), intermédiaires (I) ou résistantes à un antibiotique donné (Voir annexe 01 pour la technique). (Standardisation nationale, 2014)

Tableau 6 Listes des ATB à tester chez *Acinetobacter spp.* (Standardisation nationale, 2014)

Familles	ATB	Charge du disque (µg)
B-lactamines	Ticarcilline	75
	Ticarcilline + acide clavulanique	75/10
	Pipéracilline	100
	Céftazidime	30
	Imipénème	10
Aminosides	Amikacine	30
	Gentamicine	10
	Tobramycine	10
Quinolones	Ciprofloxacine	5
	Lévofloxacine	5
Tétracyclines	Doxycycline	30
Sulfamides	Triméthoprim + sulfamethoxazole	1.25/23.75

Certains mécanismes de résistance peuvent apparaître sur l'antibiogramme, c'est le cas de la résistance par production de BLSE qui peut être révélée en plaçant le disque de TCC devant le disque de CAZ. (S. Marzieh et al, 2015)

2 Détection des mécanismes de la résistance acquise aux céphalosporines de 3^{ème} génération :

La détection des mécanismes de résistance acquise aux C3G se fait par la recherche des BLSE et la céphalosporinase hyperproduite.

2.1 Recherche des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) :

La détection phénotypique des BLSE est basée sur le fait que ces enzymes sont inhibées par l'acide clavulanique. Ainsi, une augmentation de l'activité des C3G en présence d'acide clavulanique indique indirectement la présence d'une BLSE. Selon les recommandations du CLSI, la recherche des BLSE n'est pas obligatoire mais elle garde son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (Elhani.D, 2012 ; Standardisation nationale, 2014)

La recherche de BLSE est indiquée devant un diamètre d'inhibition (à l'antibiogramme) autour la céftazidime (CAZ) < 22mm (Standardisation nationale, 2014)

Les techniques les plus couramment utilisées pour la détection des BLSE sont le test de synergie et le test du double disque.

2.1.1 Test de synergie :

La technique de ce test est développée en annexe 02.

Ce test présente les limites suivantes :

- L'évaluation du mécanisme est uniquement qualitative car son interprétation repose sur la visualisation de l'image de la synergie ;
- L'association de ce mécanisme de résistance (BLSE) avec d'autres, tels que l'hyperproduction de céphalosporinase, rend son interprétation délicate. (Elhani D, 2012 ; Standardisation nationale, 2014)

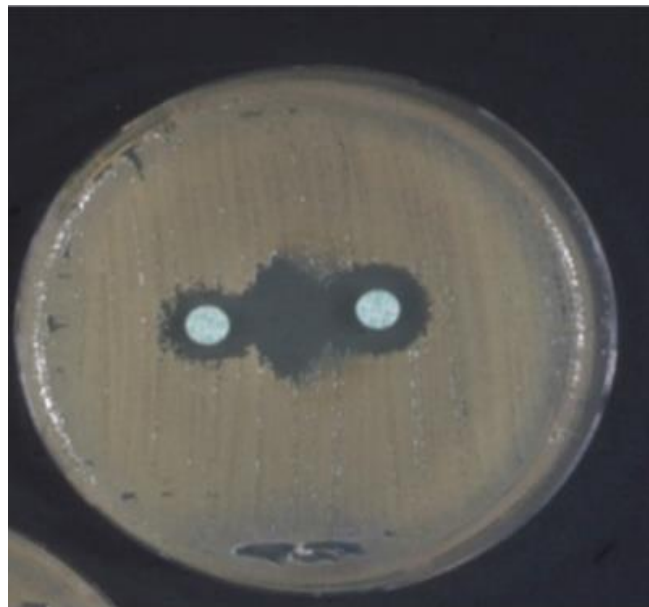


Figure 5 Test de synergie positif (Bouchon de champagne)
(MIRABAUD.M.I, 2003)

2.1.2 Test de confirmation ou test du double disque (Test espagnol) :

Le test du double disque est un test plus sensible que le test de synergie par le fait que le disque de TCC est remplacé par un disque de CAZ, après 1 heure de diffusion à température ambiante. Ce test est systématiquement effectué devant une absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G et/ou la présence d'une résistance à la ticarcilline. (Standardisation nationale.2014, Ouar. M.N.2013)

Le test se réalise selon la technique développée en annexe 03.

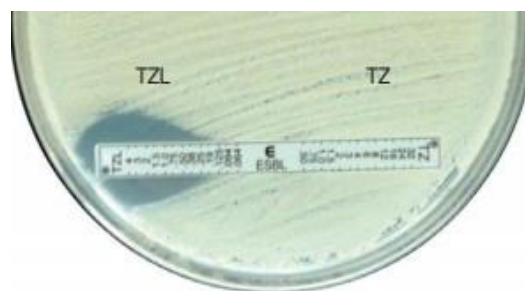


Figure 6 Test du double disque (Ouar. M. N, 2013)

2.1.3 E-test :

Les bandelettes E-test présentent d'un côté un gradient de ceftazidime, ou de céfépime et de l'autre côté un gradient de la même molécule associée à l'acide clavulanique (4 mg/L). (Figure 07)

Une baisse de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en présence d'acide clavulanique indique une éventuelle BLSE. L'interprétation des résultats des bandelettes E-test pour BLSE est délicate et exige un minimum d'expérience (Elhani D, 2012 ; S. Harada, 2008)



TZ : Ceftazidime , TZL : Ceftazidime + Clavulanate.

Figure 7 E-Test BLSE positif. (S. Harada, 2008)

2.1.4 Cica-Beta-Test :

Le Cica Beta test est un test rapide qui détecte les BLSE, à partir d'une culture bactérienne de 24 h, avec une sensibilité de 85 %. Il est basé sur l'utilisation d'une céphalosporine chromogène, HMRZ-86, possédant un groupement protecteur qui prévient la rupture de son cycle β -lactame. Cependant, cette céphalosporine est hydrolysée par les BLSE, les enzymes de types AmpC et les métallob- β -lactamases en donnant un virage de coloration du jaune au rouge après 2 à 15 min à température ambiante (Mona A, 2013 ; Elhani D, 2012 ; J.-P. Lavigne, 2011).

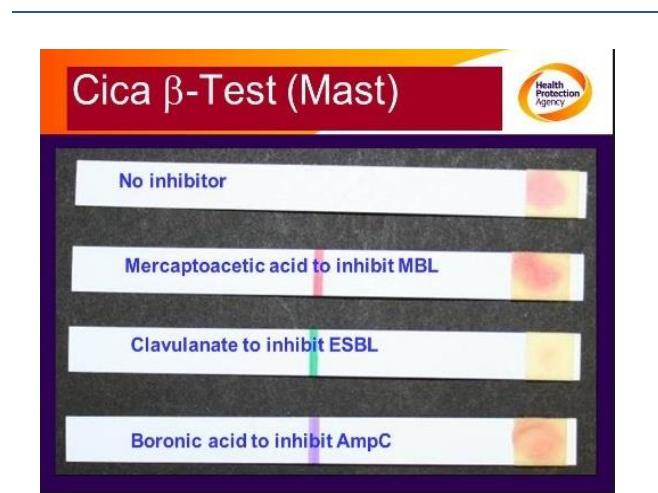


Figure 8 Bandelettes de Cica Beta Test.(D livermore, 2015)

2.1.5 Automates :

Les automates d'identification et d'antibiogramme, comme le Phoenix ou le Vitek2, permettent d'identifier les BLSE. Ces systèmes automatiques, basés sur la mesure de l'activité antibactérienne en termes de CMI des céphalosporines à large spectre seules et en présence d'acide clavulanique, ont rencontré un grand succès dans les laboratoires cliniques (Elhani D, 2012).

2.2 Recherche de la céphalosporinase hyperproduite :

La recherche de la céphalosporinase hyperproduite est essentiellement faite par le test à la cloxacilline

2.2.1 Test à la cloxacilline :

La distinction entre les céphalosporinases hyperproduites (CHN) et les BLSE est parfois difficile à effectuer sur un antibiogramme habituel. (P. Caurvalan, 2012) La cloxacilline, ajoutée à une gélose Mueller Hinton (MH), inhibe très fortement les céphalosporinases et reste inefficace sur les pénicillinases et oxacillinases. (N. Grall et al 2011) L'inhibition de la Case entraine l'apparition des phénotypes sauvages d'*A.baumannii* ou l'apparition d'autres mécanismes de résistance acquise tels que la production de BLSE, de pénicillinase et l'imperméabilité. (Standardisation nationale, 2014 ; Stürenburg et al, 2004)

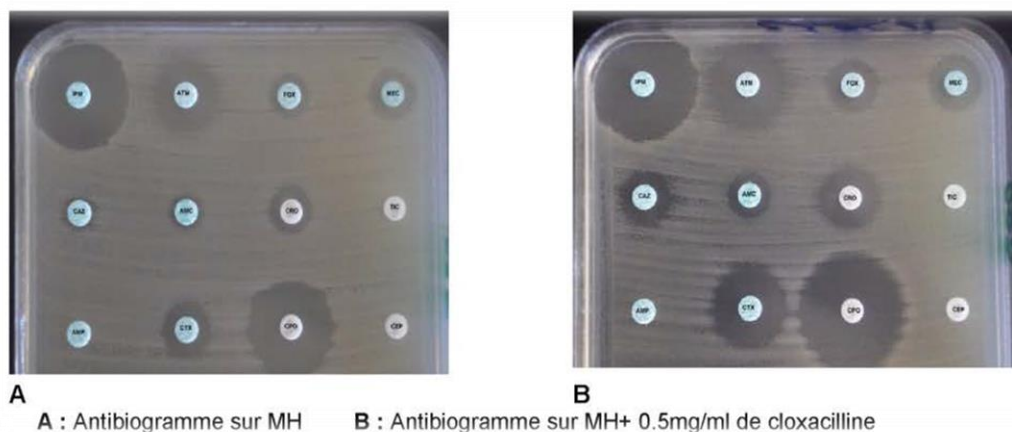


Figure 9 Antibiogramme avec et sans cloxacilline. (Standardisation nationale, 2014)

3 Détection des mécanismes de résistance acquise aux carbapénèmes :

Plusieurs méthodes phénotypiques sont utilisables pour la détection des carbapénémases dont certaines sont spécifiques d'une seule et même classe (L. Poirel et al, 2013 ; P. Nordmann et al .2010)

La recherche des carbapénémases chez *A. baumannii* est indiquée dans les situations suivantes :

- Une sensibilité diminuée aux carbapénèmes (imipénème et/ou méropénème) révélée par un diamètre d'inhibition à l'antibiogramme ≤ 22 mm ;
- Présence des colonies discrètes dans la zone d'inhibition des carbapénèmes sur l'antibiogramme ;
- Une CMI déterminée par E-test pour les molécules méropénème et imipénème $\geq 2\mu\text{g/ml}$. (N. Grall et al, 2011 ; Standardisation nationale, 2014)

3.1 Détection non spécifique des carbapénémases :

3.1.1 Test de Hodge modifié :

Le test de Hodge modifié est la méthode phénotypique la plus utilisée pour la détection des carbapénémases (SIM, VIM, IMP, NDM et KPC). Il est caractérisé par sa sensibilité mais ne fournit pas d'information sur le type de carbapénémase mise en cause. (N. Grall et al, 2011)

Ce test est basé sur l'inactivation d'un carbapénème par un organisme producteur de carbapénémase, ce qui permettra la culture d'une souche indicatrice, sensible au carbapénème (*Escherichia coli* sauvage), à proximité d'un disque de cet ATB le long d'une strie de la souche productrice de carbapénémase. (N. Grall et al, 2011 ; L. Poirel et al, 2013) (Voir la technique du test en annexe 06).

Le test de Hodge présente les limites suivantes :

- Des résultats faussement négatifs peuvent être enregistrer pour des souches productrices des carbapénémases de type NDM-1.
- Des résultats faussement positifs peuvent être enregistrer pour des souches associant un défaut d'accumulation des carbapénèmes à la production d'une BLSE ou une céphalosporinase. (Standardisation nationale, 2014)

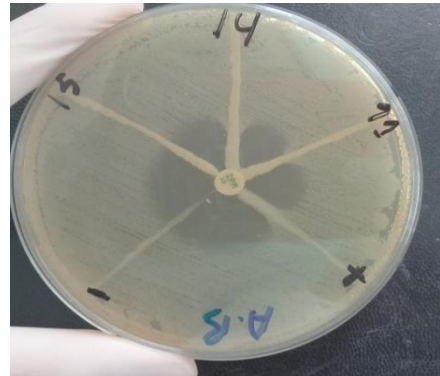


Figure 10 Test de Hodge modifié. (Originale)

3.1.2 Carbapenem Inactivation Method :

La Carbapenem Inactivation Method (CIM) est un test phénotypique peu coûteux, permettant une détection rapide (dans huit heures) de l'activité carbapénémase, chez les Enterobacteriaceae et les BGN non fermentaires y compris *A. baumannii*. Son principe est identique à celui du test de Hodge, il est basé sur l'inactivation du carbapénème (méropénème) par la souche à tester si elle est productrice de carbapénémase et permet ainsi la croissance d'une souche sensible (*E. coli* sauvage). (Voir la technique du test en annexe 07)

Les résultats du Carbapenem Inactivation Method ont montré une importante concordance avec les résultats obtenus par PCR pour détecter les gènes codant pour les carbapénémases (KPC, NDM, OXA-48, VIM, IMP et OXA-23). (Van der Zwaluw K et al, 2015)

3.2 Détection spécifique des carbapénémases :

3.2.1 Méthodes de détection des carbapénémases de classe B d'Ambler :

La détection des β -métalloenzymes est basée sur le fait que l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) chélate les ions zinc, indispensables à l'activité hydrolytique des enzymes de la famille des métalloenzymes dont les MBLs. Ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, le tazobactam ou par l'acide boronique. (Standardisation nationale, 2014 ; L. Poirel et al, 2013)

Cette détection peut être réalisée au moyen de test de synergie sur double disques ou le test de disque combiné (dont les techniques sont développées en annexes 08 et 09) ou en utilisant des bandelettes E-Test MBLs qui se présente sous forme d'une bandelette contenant d'un côté

l'imipénème seul et de l'autre côté imipénème associé à l'EDTA. (Timothy R.W et al, 2008 ; Aparna S et al, 2014)

3.2.2 Méthodes de détection des carbapénémases de la classe A d'Ambler :

La détection des souches productrices de KPC ou des autres carbapénémases de la classe A d'Ambler est basée sur l'effet inhibiteur de l'acide boronique sur ces enzymes. (N. Grall et al, 2011)

3.2.3 Méthodes de détection des carbapénémases de la classe D d'Ambler :

Les propriétés enzymatiques des carbapénémases de la classe D n'ont pas permis le développement de tests phénotypiques spécifiques pour leur détection. Ainsi, l'identification spécifique des organismes producteurs de ces enzymes nécessite des techniques moléculaires (PCR spécifiques des gènes d'intérêt) (N. Grall et al, 2011).

3.3 Techniques de diagnostic rapide des carbapénémases :

3.3.1 Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) :

Le Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of Flight (MALDI-TOF) est une méthode qui utilise la spectrométrie de masse, pour l'identification rapide (en quelques minutes) des organismes, par l'obtention d'un spectre caractéristique nommé « l'empreinte spectrale » d'une espèce donnée (Neelja S et al, 2015).

La recherche des souches *Acinetobacter baumannii* productrices de carbapénémases correspond à la recherche d'une éventuelle modification du spectre d'un carbapénème sous l'effet de la carbapénémase produite par la bactérie. Cette technique nécessite du personnel particulièrement entraîné et un spectromètre de masse qui est un appareil très onéreux. (L. Poirel et al, 2013)



Figure 11 MALDI TOF.(F.Denis et al, 2016)

3.3.2 Carba NP® test :

Le principe de ce test est la mise en évidence d'une acidification du milieu en cas d'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase produite par la souche bactérienne. L'indicateur du pH change de couleur, du rouge au jaune, révélant cette acidification. (Figure 12).

Ce test présente les avantages suivants :

- Il met en évidence la production de tous les types de carbapénémases ;
- Il est sensible et spécifique à 100 % ;
- Il est particulièrement rapide : les résultats sont obtenus en moins de 2h ;
- Il ne nécessite qu'un matériel peu coûteux et ne requiert pas de personnel spécialisé ;
- Il peut être réalisé à partir des souches isolées mais également directement à partir de prélèvements cliniques tels que les hémocultures. (Dortet. L et al, 2014 ; L. Poirel et al, 2013)

Le Carba NP® présente, cependant, une faible sensibilité de détection des bêtalactamases à faible activité carbapénémase, comme OXA-48, ou de détection de la production des carbapénémases chez des isolats ayant un aspect mucoïde de leurs colonies. (N. Tiget et al, 2016)

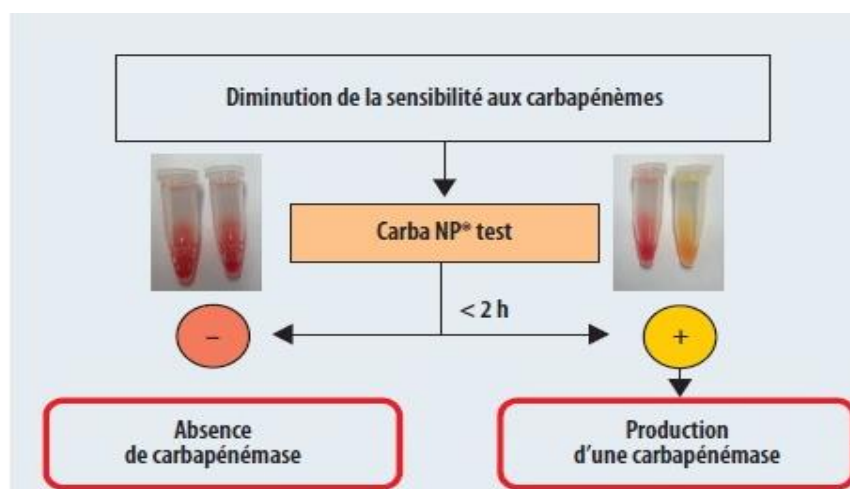


Figure 12 Carba NP test positif et négatif. (Poirel et al, 2013)

4 Détection des mécanismes de la résistance acquise aux fluoroquinolones :

L'expression de la résistance acquise aux fluoroquinolones, même si elle est croisée, est variable d'une fluoroquinolone à une autre. Il est recommandé de déterminer la CMI de la molécule potentiellement utilisable en thérapeutique. En pratique, il est recommandé d'au moins tester l'activité de la ciprofloxacine (Vincent C, 2012).

Une relation entre la valeur de CMI et le mécanisme probable a été établie.

Tableau 7 Relation entre la valeur de CMI et le mécanisme de résistance probabiliste. (Vincent C.2012)

CMI Acide nalidixique(mg/l)	CMI ciprofloxacine(mg/l)	Mécanisme (s) de résistance probable(s)
2-8 [S]*	0.12- 1 [S]	Sauvage (léger efflux possible)
64-512 [R]*	4-16 [R]	1 mutation GyrA ± efflux
>1024 [R]	32-128 [R]	1 mutation GyrA + 1 mutation ParcC ± efflux.

*Rendu au clinicien [S] : sensible [R] : résistant.

4.1 Détection de la résistance par modification du système d'efflux :

La mise en évidence de ce mécanisme de résistance aux fluoroquinolones est basée sur la comparaison des valeurs de CMI avant et après l'ajout d'un inhibiteur de système d'efflux

phényl-arginine- β -naphtylamide (Pa β N) ou 1- (1-naphtylméthyl) –pipérazine (NMP) dans le milieu. (M.H. MALEKI et al, 2014)

5 Détection des mécanismes de résistance acquise à la rifampicine :

La susceptibilité à la rifampicine se fait en absence et en présence des inhibiteurs d'efflux de la pompe, comme NMP ou Pa β N, par une méthode de microdilution dans un bouillon MH selon les recommandations du CLSI. (Giannouli. M et al, 2012)

Chapitre V

Approches thérapeutiques

Chapitre V

Approches thérapeutiques

L'imipénème qui a été considéré, pendant longtemps, comme le « Gold standard » dans le traitement des infections à *A. baumannii* MDR, a depuis quelques années perdu ce statut, par l'émergence des souches multirésistantes, laissant considérer ce germe comme l'une des BMR qui menacent l'arsenal thérapeutique actuel (Viehman.J et al, 2014 ; Regaieg K et al, 2017 ; L. Dortet et al, 2016 ; J. Poissy et al, 2017). En absence de nouveaux antibiotiques, les cliniciens ont maintenant recours à des molécules plus anciennes, comme la colistine ou la rifampicine et même à des molécules non actives sur les BGN comme les glycopeptides. (Dheepa M et al, 2016)

Le présent chapitre traitera les différentes approches thérapeutiques possibles selon l'étendue de la résistance (MDR, XDR, PDR) :

1 Traitement des infections dûes à *A. baumannii* MDR (Sensible à l'imipénème) :

Les carbapénèmes demeurent le traitement de choix devant des souches *A. baumannii* MDR. Ils sont généralement utilisés en thérapie combinée, dans le but de limiter l'émergence de la résistance à ces ATB et d'obtenir une synergie entre les molécules. (H. Yanga et al, 2015 ; Xiaomeng.D et al, 2015 ; German GJ et al, 2018)

1.1 Associations à base de carbapénèmes :

Les carbapénèmes sont les derniers ATB de la famille des β -lactamines qui se caractérisent par un large spectre d'activité et une stabilité vis-à-vis des β -lactamases. Quatre molécules sont actuellement disponibles sur le marché mais seules trois d'entre elles sont actives sur *A. baumannii* et qui sont : l'imipénème, le méropénème et le doripénème. (N. Grall et al, 2011 ; Vikas M et al, 2010)

1.1.1 Imipénème + tétracyclines (doxycycline et minocycline) :

Les tétracyclines inhibent la synthèse protéique bactérienne, en se liant à la sous-unité ribosomale 30S, en bloquant ainsi la chaîne d'élongation peptidique et en induisant un effet bactériostatique.

Les tétracyclines présentent les propriétés suivantes :

- Une bonne pénétration dans les tissus cibles (comme le parenchyme pulmonaire) ;
- Une concentration sérique non altérée par le dysfonctionnement rénal ;
- Une bonne tolérance. (Ya-Sung. Y et al, 2016 ; Falagas ME et al, 2015)

Dans la méta-analyse de Falagas ME, et al (2015) qui visait l'évaluation des données cliniques disponibles sur le traitement des infections à *A. baumannii* avec des tétracyclines, les associations à base de doxycycline et de minocycline ont montré une efficacité clinique et microbiologique prometteuse (succès clinique obtenu chez 120 (76,9%) des 156 patients, avec seulement 1 cas sur 88 des événements indésirables). Dans la plupart des cas (86,4%), ces ATB ont été administrés en association avec un autre ATB comme l'imipénème.

La minocycline est une ancienne molécule qui s'est avérée l'un des meilleurs ATB contre *A. baumannii* MDR (Castanheira.M et al, 2014). Elle présente une activité bactériostatique qui empêche son utilisation pour le traitement d'infections graves mais sa combinaison avec l'imipénème a montré une activité bactéricide contre *A. baumannii* MDR. Cependant, le manque de synergie dans les isolats hébergeant le gène *tetB* empêche son utilisation comme un traitement empirique. (Rodriguez. C.H et al, 2015)

1.1.2 Imipénème + amikacine :

L'association de l'amikacine à l'imipénème pour le traitement des pneumonies causées par *A. baumannii* n'a prouvée aucune efficacité. Cette association n'était pas aussi efficace que la monothérapie par l'imipénème probablement à cause d'une interaction médicamenteuse *in vivo* entraînant une diminution des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques pour les deux agents antibactériens. (J. Vila et J. Pachon, 2012)

1.2 Autres alternatives :

Mis à part les carbapénèmes et leurs associations, d'autres alternatives ont fait l'objet d'études et ont prouvées leur efficacité, c'est le cas du sulbactam-ampicilline en monothérapie et l'association minocycline-amikacine :

1.2.1 Sulbactam-ampicilline :

Le sulbactam est un puissant inhibiteur des β -lactamases mais il possède des propriétés bactéricides contre *A. baumannii* (J.G-Montero et al, 2015). Le sulbactam et l'ampicilline ne sont disponibles qu'en association (VIDAL, 2013), bien que cette association ne soit pas nécessaire étant donné que l'activité ampicilline-sulbactam contre *A. baumannii* est exclusivement due au sulbactam. (J.G-Montero et al, 2015)

Des études montrent que l'efficacité du sulbactam est la même que celle de l'imipénème à condition que les doses de sulbactam soient suffisamment élevées pour atteindre les concentrations plasmatiques au-dessus de CMI. (Viehman.J et al, 2014 ; K.J. Towner, 2009)

1.2.2 Minocycline + amikacine :

Les résultats de l'étude de He.S et al, réalisée sur un modèle d'infection pulmonaire à *A. baumannii* multirésistant induite chez des souris, était en faveur de l'association minocycline + amikacine qui a permis le rétablissement de l'inflammation des tissus pulmonaires, après 3 jours de traitement.

2 Traitement des infections dues à *A. baumannii* XDR (Résistant à l'imipénème) :

Dans le cas des infections à *A. baumannii* ultrarésistant, c'est la colistine qui constitue le traitement de choix. (Wentao N et al, 2014 ; Haifei Y et al, 2015)

La colistine a été découverte en 1947 et elle a connu une large utilisation, avant d'être complètement abandonnée dès la fin des années 1970, à cause de sa toxicité rénale et neurologique. (R. Kohen, 2010 ; E. Kipnis et B.P. Guery, 2010). Actuellement, elle connaît un regain d'intérêt pour le traitement, en dernier recours, des infections nosocomiales graves dues à des BGN MDR ou XDR y compris les souches productrices de carbapénémases. (I. Karaïskos et al 2017)

Cependant, il semble qu'après un traitement avec la colistine, l'apparition de l'hétérorésistance et la résistance à celle-ci reste inévitable. (J. Vila et J. Pachon, 2012 ; Viehman.J et al, 2014)

Pour empêcher l'apparition de la résistance à la colistine et améliorer son efficacité deux stratégies peuvent être explorées :

- L'administration d'une dose de charge au début du traitement (pour éviter l'échec thérapeutique) ;
- La combinaison de la colistine avec d'autres ATB.

Cette dernière stratégie est la plus appliquée, du fait de la néphrotoxicité de la colistine qui limite l'augmentation des doses en monothérapie. (L. Dortet et al, 2016 ; K.J. Towner, 2009 ; J. Vila et J. Pachon, 2012)

2.1 Associations à base de la colistine :

2.1.1 Colistine + rifampicine :

La rifampicine conserve souvent des CMI faibles pour l'*A. baumannii* XDR. Elle a l'avantage d'être plus efficace que la colistine dans l'élimination d'une souche résistante à l'imipénème. Néanmoins, le développement de résistance à la rifampicine, en monothérapie, reste une préoccupation importante. Pour cette raison, l'utilisation de la rifampicine seule n'est actuellement pas recommandée dans le traitement des infections dues à *A. baumannii* (J. Vila et J. Pachon, 2012 ; Viehman.J et al, 2014 ; K.J. Towner, 2009). Les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'association de rifampicine à la colistine pour le traitement de PVA, sans le développement de résistance ni à la rifampicine ni à la colistine. (J. Vila et J. Pachon, 2012)

Dans une récente étude sur l'activité de la colistine, en combinaison avec le méropénème, la tigécycline, la fosfomycine, l'acide fusidique, la rifampicine ou le sulbactam contre *A. baumannii* XDR dans une infection expérimentale chez des souris, les résultats étaient en faveur de la combinaison rifampicine-colistine avec un effet synergique chez 100% des souches après 24 h de traitement. (Fan. B et al, 2016).

Cependant, une étude clinique multicentrique, qui a réévalué de manière randomisée l'efficacité de l'association colistine + rifampicine, par rapport à la colistine seule, dans le

traitement des infections graves dues à *A.baumannii* XDR, a montré une augmentation significative du taux d'éradication microbiologique dans le groupe recevant la colistine associée à la rifampicine mais la mortalité à 30 jours n'était pas réduite et la durée d'hospitalisation n'a pas été affectée par cette association. (E. Durante-Mangoni et al, 2013)

2.1.2 Colistine + acide fusidique :

L'acide fusidique cible le ribosome bactérien en inhibant la synthèse protéique. Il est inactif sur les BGN de fait de leur imperméabilité membranaire. Cependant, son association avec la colistine augmente la perméabilité par lyse de la membrane externe des BGN.

L'acide fusidique a l'avantage d'avoir :

- Une excellente biodisponibilité ;
- Une bonne pénétration dans le tissu respiratoire ;
- Un métabolisme hépatique et une excrétion biliaire, contrairement à la colistine, réduisant, par ce fait, le risque de néphrotoxicité.

Son association à la colistine a montré une puissante activité synergique et un effet bactéricide rapide *in vitro*, même sur des souches résistantes à la colistine. Elle est efficace à des faibles concentrations ce qui devrait être réalisable sur le plan thérapeutique, tout en limitant la toxicité. (Lynette M et al, 2015)

2.1.3 Colistine + tigécycline :

La tigécycline (dérivé semi-synthétique de la minocycline) est un ATB bactériostatique à large spectre d'activité. Elle est le premier agent de la classe des glycylcyclines. (K.J. Towner, 2009 ; R.Gauzit et A. Friggeri, 2017).

L'association tigécycline/colistine est justifiée par le mode d'action propre à chacune de ces deux molécules. En effet, la colistine agit en détruisant les membranes cellulaires, aboutissant à la lyse bactérienne, facilitant ainsi la pénétration et l'action de la tigécycline (inhibiteur de la synthèse protéique). (L. Lauretti et al, 2017 ; Regaieg. K et al, 2017)

2.1.4 Colistine + carbapénèmes :

Une étude prospective, observationnelle et multicentrique, réalisée dans trois hôpitaux de Taiwan, chez 55 patients, a montré que l'association colistine-carbapénème est plus efficace que l'association colistine-tigécycline pour le traitement des bactériémies à *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes. Les auteurs de cette étude ont observé une augmentation de la mortalité à 14 jours associée à la combinaison colistine-tigécycline (35%) par rapport au traitement par la colistine-carbapénème (15%). (A. Chang et al, 2015)

Une autre étude a montré que l'efficacité de l'association colistine-méropénème est supérieure à celle des associations à base de minocycline (minocycline /céfopérazone-sulbactam, méropénème ou colistine). (Ya-Sung. Y et al, 2016)

2.1.5 Colistine + sulbactam :

Une étude rétrospective, réalisée sur 89 patients, souffrant d'une PVA due à *A. baumannii* XDR, dont 52 recevant la colistine seule et 37 recevant la combinaison sulbactam/colistine, a montré, après 15 jours de traitement, que l'association sulbactam/colistine (réponse clinique de 40% contre 29.8% pour colistine seule) est meilleure que celle de la colistine en monothérapie. (Kalin G et al, 2014)

2.1.6 Colistine + fosfomycine :

La fosfomycine (inhibiteur de la synthèse du peptidoglycane) rencontre un faible niveau de résistance par rapport aux autres antibiotiques. (Rasool, M. S et al.2015) Elle présente un large spectre d'action qui n'inclut pas l'*A. baumannii* (résistance naturelle). Cependant, une synergie *in vitro* a été rapportée entre la fosfomycine et la colistine chez *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes. (A. Pourbaix et F. Guérin, 2016 ; Viehman.J et al, 2014 ; Rasool, M. S et al ; 2015)

Un effet microbiologique significativement plus favorable et une mortalité plus faible ont été enregistrés, chez les patients qui ont reçus de la colistine associée à la fosfomycine par rapport à ceux qui ont reçus la colistine seule. (R. Sirijatuphatet V. Thamlikitkul, 2014) Un taux de synergie de 73,3% a été rapporté pour cette association. (Sombat L et al, 2018)

2.1.7 Colistine + daptomycine :

La daptomycine est un lipopeptide cyclique naturel, actif uniquement sur les bactéries à Gram positif. Son mécanisme d'action implique la liaison (en présence d'ions calcium) aux membranes bactériennes, étape qui serait suivie d'une oligomérisation et d'une perturbation de l'intégrité de la membrane (formation de canaux ioniques, agrégats de structures, etc.). Cette perte d'intégrité déclencherait un efflux d'ions intracellulaires, en particulier de potassium qui conduirait à la dépolarisation de la membrane, à l'arrêt de la synthèse de macromolécules (protéines, ADN, ARN), puis à la mort cellulaire. (M.C. Verdier et al, 2011 ; Walia NK et Cameotra SS, 2015)

L'association colistine – daptomycine est très active contre *A. baumannii* sensible à la colistine, à la fois *in vitro* et *in vivo*, et ne semble pas présenter de risque de néphrotoxicité comme c'est le cas pour d'autres combinaisons à base de cet ATB telle que l'association glycopeptides- colistine. (Haifei Y et al, 2015)

2.1.8 Colistine + triméthoprim-sulfaméthoxazole :

L'association de triméthoprim-sulfaméthoxazole à la colistine pourrait constituer un traitement efficace contre les infections graves à *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes. (Nepka et al, 2016)

2.2 Associations à base de fluoroquinolones :

Historiquement, les fluoroquinolones avaient une activité raisonnablement bonne contre *A. baumannii*, mais la résistance à ces antibiotiques a rapidement émergé dans les isolats cliniques, depuis les années 1990. Les fluoroquinolones plus récents, tels que la moxifloxacine et la sitafloxacine, ont une bonne activité *in vitro* contre *A. baumannii*, en comparaison avec des agents plus anciens tels que la ciprofloxacine (Xiaomeng.D et al, 2015 ; K.J. Towner, 2009).

Les associations sitafloxacine + rifampicine et sitafloxacine + sulbactam révèlent des effets synergiques. (Xiaomeng.D et al, 2015)

3 Traitement des infections dues à *A. baumannii* PDR (Résistant à la colistine) :

L'utilisation de la colistine pour le traitement des infections à *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes, a induit l'émergence de la résistance à la colistine qui représente actuellement un véritable problème de santé publique. (Seongman.B et al, 2016 ; Alessandra.O et al, 2017)

Le traitement des infections à *A. baumannii* PDR associe généralement de la colistine à un autre ATB. Cette association est hypothétiquement justifiée par le fait que *A. baumannii* résistant à la colistine, peut avoir une membrane externe modifiée et ainsi une perméabilité augmentée aux autres ATB, notamment ceux qui ciblent la paroi cellulaire. (Seongman B et al 2016)

3.1 Association à base de colistine :

3.1.1 En bithérapie :

3.1.1.1 Colistine + rifampicine :

Les résultats de l'étude de Seongman.B et al réalisée en 2016 *in vitro* contre *A. baumannii* résistant à la colistine (8 isolats cliniques provenant de cas de bactériémie et 1 d'un cas de pneumonie) ont montré que la combinaison colistine + rifampicine était efficace.

3.1.1.2 Colistine + glycopeptides :

Les glycopeptides (la vancomycine, la téicoplanine et la télavancine) exercent leur activité en inhibant la synthèse du peptidoglycane mais ils ne pénètrent pas la membrane externe des BGN et sont considérés inactifs vis-à-vis de ces pathogènes. Cependant, une perturbation de la membrane externe peut leur permettre d'atteindre leur cible. (Haifei .Y et al, 2015).

Une méta-analyse, visant l'évaluation de l'activité synergique, *in vitro*, des polymyxines combinées à d'autres antibiotiques contre *A. baumannii*, a montré que la combinaison colistine + glycopeptides à un taux de synergie > 70%. (Wentao N et al, 2014)

Dans une autre étude, évaluant l'efficacité de l'association télavancine-colistine *in vivo*, dans un modèle simple d'invertébrés (*Galleriamellonella*) infectés par *A. baumannii*, les résultats ont démontré une synergie de cette association et une plus grande efficacité par rapport à la monothérapie à base de la colistine dans le traitement de ces larves infectées (M. Hornsey et al, 2013)

3.1.1.3 Colistine + acide fusidique :

L'association de l'acide fusidique à la colistine s'est révélée aussi efficace pour le traitement des infections à *A. baumannii* PDR qu'aux infections à *A. baumannii* XDR.

Cette efficacité est liée à la modification de la membrane externe de ces souches qui augmente la perméabilité à l'acide fusidique. (Lynette M et al 2015)

3.1.2 En trithérapie (Colistine + rifampicine + vancomycine) :

Une association innovante, composée de colistine, vancomycine et rifampicine, a prouvé son efficacité, *in vitro* et *in vivo*, chez un patient âgé de 77 ans, souffrant d'une PVA, causée par *A. baumannii* PDR. Cette association peut constituer une option thérapeutique pour ce type d'infections. (Oliva A et al, 2017)

3.2 Doxycycline + cotriméthoxazole :

Une étude , réalisée à l'hôpital universitaire d'Alexandrie, en Egypte, chez 50 patients développant des infections nosocomiales à *A. baumannii* résistants à la colistine, a montré un taux de guérison microbiologique de 60% (30/50 patients), avec des réponses cliniques remarquables pour les infections du site opératoire (88,9%) et les pneumonies (56,7%) par rapport aux bactériémies qui n'ont pas répondu à la combinaison doxycycline + cotriméthoxazole .(S. Farid et al , 2016)

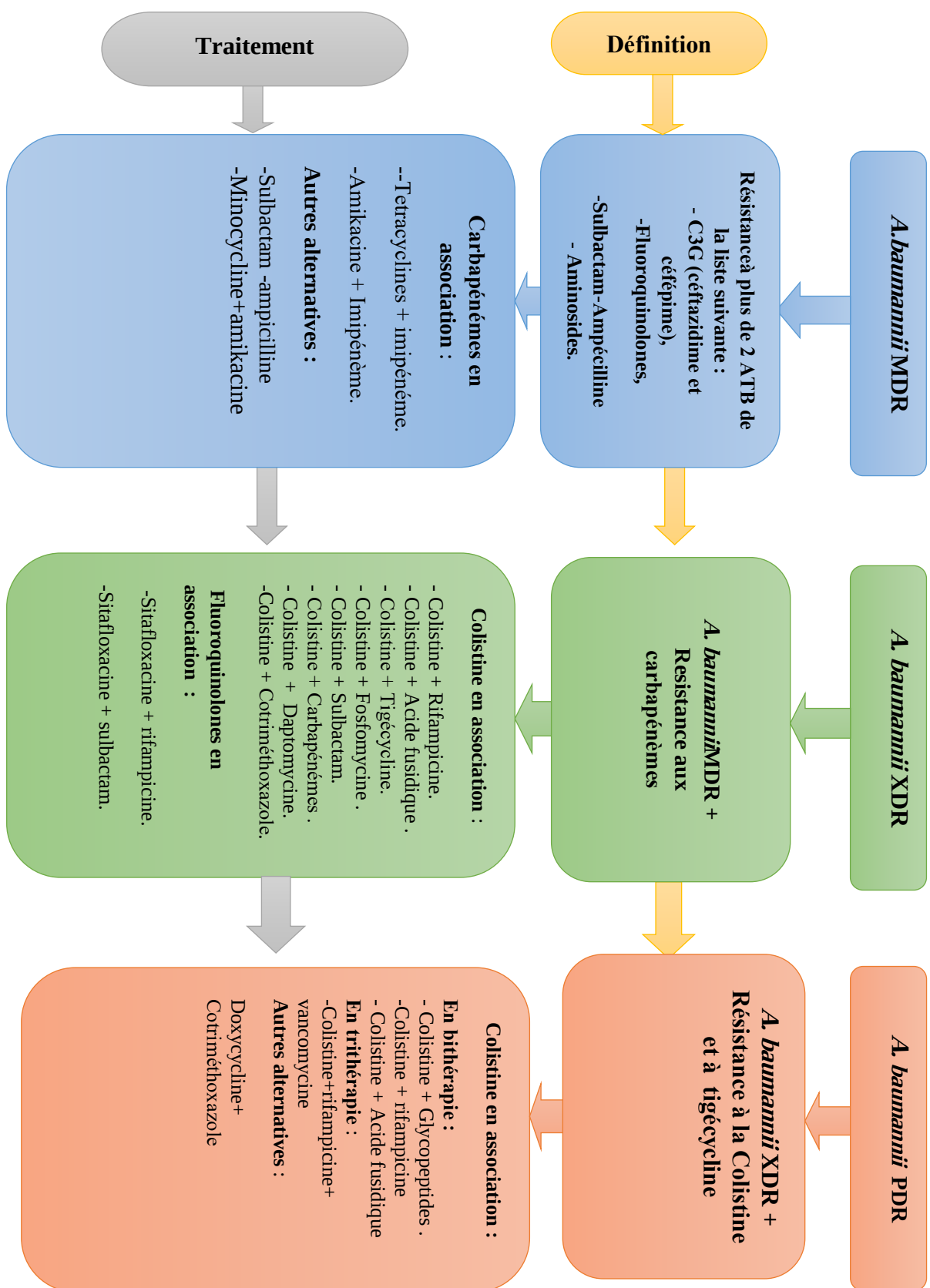


Figure 13 Approches thérapeutiques des infections à *Acinetobacter baumannii* selon l'étendue de la résistance. (Original)

4 Perspectives thérapeutiques :

4.1 Phagothérapie :

La phagothérapie est l'utilisation de virus bactériophages lytiques, afin de traiter certaines maladies infectieuses d'origine bactérienne. Le concept de la phagothérapie a été envisagé pour le traitement des maladies infectieuses avant même l'apparition des antibiotiques. L'objectif étant de lyser rapidement les bactéries ciblées. Cette méthode n'a pas abouti à des effets thérapeutiques, en raison de ses effets indésirables en particulier immunitaires. (Lemaoui C-E et al, 2017 ; Dufour.Net Debarbieux.L, 2017)

Un cas de succès thérapeutique, à base de bactériophages, a été rapporté chez un diabétique de 68 ans, atteint d'une pancréatite nécrosante compliquée d'une infection à *A. baumannii* MDR. L'administration de ces bactériophages, en intraveineux et en percutanée dans les cavités de l'abcès, a été associée à la disparition de l'infection à *A. baumannii*. (Robert T et al, 2017)

4.2 Inhibition du transfert des plasmides :

L'acquisition d'une résistance aux antibiotiques chez une bactérie peut être transmise aux autres bactéries par des plasmides. De ce fait, l'inhibition du transfert de matériel génétique entre les souches bactériennes a été discutée comme une stratégie limitant la résistance aux antibiotiques.

Une équipe Inserm de France s'est intéressée récemment à ces transferts observés *in vitro* à l'état naturel. Ces observations de mécanisme inconnu suggèrent que l'inhibition des échanges de plasmides entre les bactéries permettrait de diminuer les cas de résistance aux antibiotiques. (Lemaoui C-E et al, 2017)

4.3 Peptides antimicrobiens :

Les peptides antimicrobiens (PAMs) sont synthétisés par tous les organismes vivants, de la bactérie à l'homme, en passant par les végétaux. Ils représentent l'une des familles d'anti-infectieux les plus prometteuses qui ont été découvertes, au cours de ces dernières décennies. Avec leur large spectre d'activité, leurs effets bactéricides ainsi que leurs propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices, ces molécules présentent de nombreux avantages par rapport aux anti-infectieux disponibles sur le marché. La plupart des PAMs ont un effet bactéricide par insertion dans la membrane, entraînant ainsi une perméabilisation puis une lyse cellulaire. Certains sont, également, capables de traverser la membrane et cibler les acides nucléiques ou les enzymes, interférant ainsi avec les processus biologiques de la cellule. Plusieurs études récentes ont pu démontrer que l'activité antibactérienne n'était en rien affectée par les mécanismes de résistance, mis en place par les bactéries contre les antibiotiques (Lemaoui C-E et al, 2017). Un nombre important de ces agents ont été testé, *in vitro*, contre *Acinetobacter spp.* Les plus actifs sont : le buforin II, la cécropine P1 et la magainine. (J. Vila et J. Pachon, 2012)

4.4 ARN interférents :

Le principe de cette stratégie thérapeutique consiste à trouver dans l'ADN ou l'ARN d'une bactérie certains sites qui contrôlent la synthèse des protéines responsables de la résistance aux antibiotiques, comme par exemple, les gènes qui codent pour les bêtalactamases. On synthétise, alors, des segments d'ARN capables de se lier exclusivement avec ces sites. Cette liaison spécifique aboutit au blocage de la synthèse des protéines impliquées dans la résistance. (Lemaoui C-E et al, 2017)

Partie Pratique

Matériels et méthodes

Acinetobacter baumannii multirésistant est un agent bactérien opportuniste, responsable de plusieurs endémies hospitalières autour du monde, notamment au niveau des services de soins intensifs. Il se caractérise par son inquiétante capacité d'acquérir, continuellement, des nouveaux mécanismes de résistance aux ATB, aboutissant à la totorésistance, à l'origine des échecs thérapeutiques.

C'est devant ces données que le présent travail a été entrepris et dont les objectifs principaux sont les suivants :

- Révéler l'implication de l'*Acinetobacter baumannii* résistant aux antibiotiques, dans les infections diagnostiquées chez les malades admis au niveau de l'unité de réanimation polyvalente, du service des urgences médicochirurgicales (UMC), du centre hospitalo-universitaire de Blida unité FRANTZ Fanon.
- Caractériser phénotypiquement les différents mécanismes responsables de l'antibiorésistance chez ce pathogène.
- Evaluer l'étendue de la résistance chez les souches isolées par leur catégorisation en souches MDR, XDR et PDR.

Les objectifs secondaires sont :

- Etablir un logigramme réalisable en routine pour la caractérisation phénotypique des principaux mécanismes de résistance.
- Proposer un schéma thérapeutique pour le traitement des infections causées par les souches isolées.
- Tenter d'établir un lien de clonalité pour les souches détectées.

1 Présentation de l'étude effectuée :

Pour répondre aux objectifs du présent travail, une étude prospective, étalée sur une période de 3 mois (janvier, février et mars 2018), a été réalisée. L'étude portait sur tous les prélèvements, à visée diagnostique, provenant des patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente du service des UMC.

Les souches *Acinetobacter baumannii*, isolées de ces prélèvements, ont fait l'objet d'une caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux bêtalactamines. Seules les souches répondant aux critères suivants ont été incluses : Souches provenant de l'unité de réanimation polyvalente durant la période de l'étude (2 janvier – 31 mars 2018), non doublons et exprimant un phénotype multirésistant à l'antibiogramme.

2 Matériels et méthodes :

2.1 Matériels :

La réalisation des différentes études a nécessité l'utilisation d'un ensemble de matériels biologiques et non biologiques représentés dans les tableaux 8 et 9.

Tableau 8 Matériels non biologiques nécessaires à la réalisation de l'étude (Original)

Equipements de laboratoire	- Paillasse et registres de paillasse. - Evier et eau courante. - Eau physiologique. - Bec bunsen. - Microscope optique. - Etuve. - Séchoir. - Réfrigérateur. - Congélateur. - Bain-marie. - Densitomètre.
Fournitures	- Blouse de laboratoire. - Gants. - Savon pour les mains. - Liquide désinfectant. - Pincés. - Portoirs pour tubes. - Disques d'ATB. - Ecouvillons en coton stérile. - Micropipette, embouts et poire. - Seringues stériles. - Pied à Coulisse métallique. - Anse de platine.
Verrerie	- Boîte de Pétrie 90 mm de diamètre en plastiques. - Lame et lamelle. - Pipettes Pasteur. - Tubes à essai stériles. - Tubes secs.
Milieu de culture et d'identification	- Gélose nutritive. - Milieu de Mueller Hinton. - Milieu de conservation (gélose inclinée). - Bouillon nutritif. - Galerie API 20NE (BioMerieux®).
Réactifs	-Poudre d'oxacilline. -Poudre de Zinc. -Réactif NR1 et NR2 (Institut Pasteur-Algérie). -Réactif de Kovacs (Institut Pasteur-Algérie).

Tableau 9 Matériels biologiques nécessaires à la réalisation de l'étude (Original)

Souches à tester	Souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> conservées
Souches de référence pour le contrôle de qualité	<i>E. coli</i> ATCC 25922
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de carbapénémase

2.2 Méthodes :

2.2.1 Caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines :

Pour la détection des mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines, l'étude a été menée selon la démarche représentée par la figure 14.

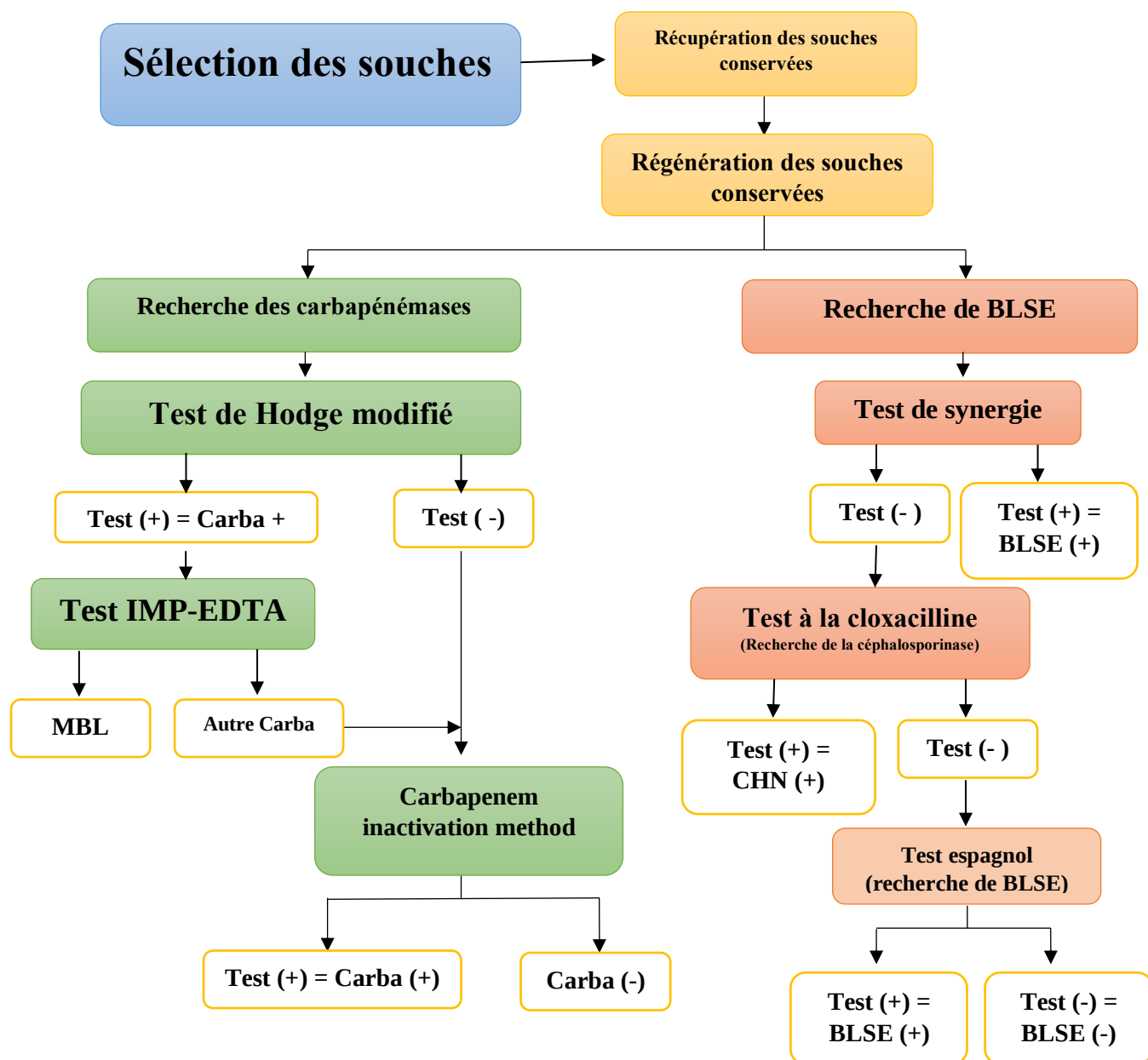


Figure 14 Démarche suivie pour la détection des mécanismes de résistances aux β - lactamines. (Original)

2.2.1.1 Sélection des souches :

Les souches à tester ont été, manuellement, sélectionnées, à partir du registre de conservation, disponible au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire central du CHU-Blida unité Frantz Fanon.

Seules les souches *A. baumannii* provenant de l'unité de réanimation du service des UMC, durant la période d'étude, non doublons et présentant un phénotype multirésistant, ont été sélectionnées. Ainsi, 15 souches, dont les profils de résistance sont résumés dans le tableau 10, ont fait l'objet d'une caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux bêtalactamines.

Tableau 10 Profils de résistance des souches sélectionnées pour l'étude phénotypique (Original)

Familles d'ATB	ATB	Prélèvements divers													Urines	Hémoc
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Bêtalactamines	TIC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	TCC									R	R	R	R		R	
	PIP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	CAZ	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	IMP	R	R	R	R	R	R	R	R	S		R		R		
	MER									S	R		R		R	R
Aminosides	AN	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	R
	GM	R	R	R	R	R	R	R	R	R		R	R		R	R
	TM	R	R	R	S		R	S	R	S	S	S	R	R	S	R
	NET						R		R							
Fluoroquinolones	CIP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	LEX				R	R	R	R	R	R	R	R	R		R	R
Inhibiteur de la voie des folates	SXT	S	S	S	R	R	R	R	R			R	R	S	R	R
Cyclines	TE		R	R	R	R	R				R	R	R	R	R	
Polymyxines	CS						S									

 : ATB non testé

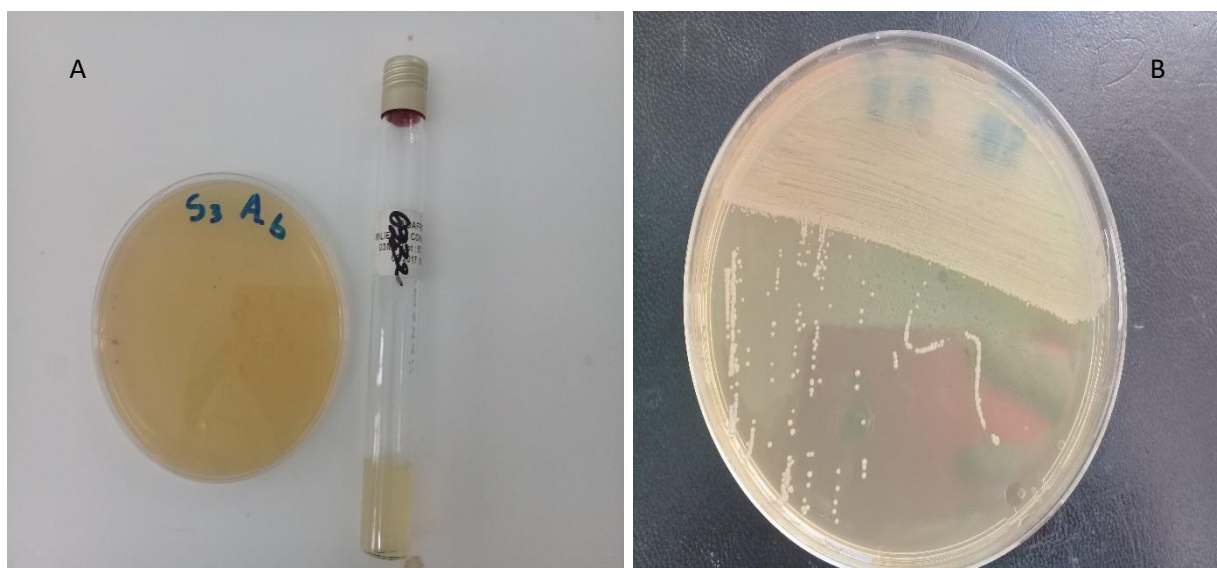
2.2.1.2 Récupération des souches :

Les souches, sélectionnées pour faire l'objet de cette étude, ont été récupérées à partir des souchothèques de conservation.

2.2.1.3 Régénération des souches conservées :

Les souches conservées ont été régénérées sur gélose nutritive (GN) de la manière suivante :

- Prélèvement des colonies à partir du milieu de conservation à l'aide d'un écouvillon.
- Ensemencement du 1^{er} quadrant du milieu GN par l'écouvillon.
- Ensemencement par la méthode des 3 cadrans à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Incubation à l'étuve à 37°C pendant 24h.

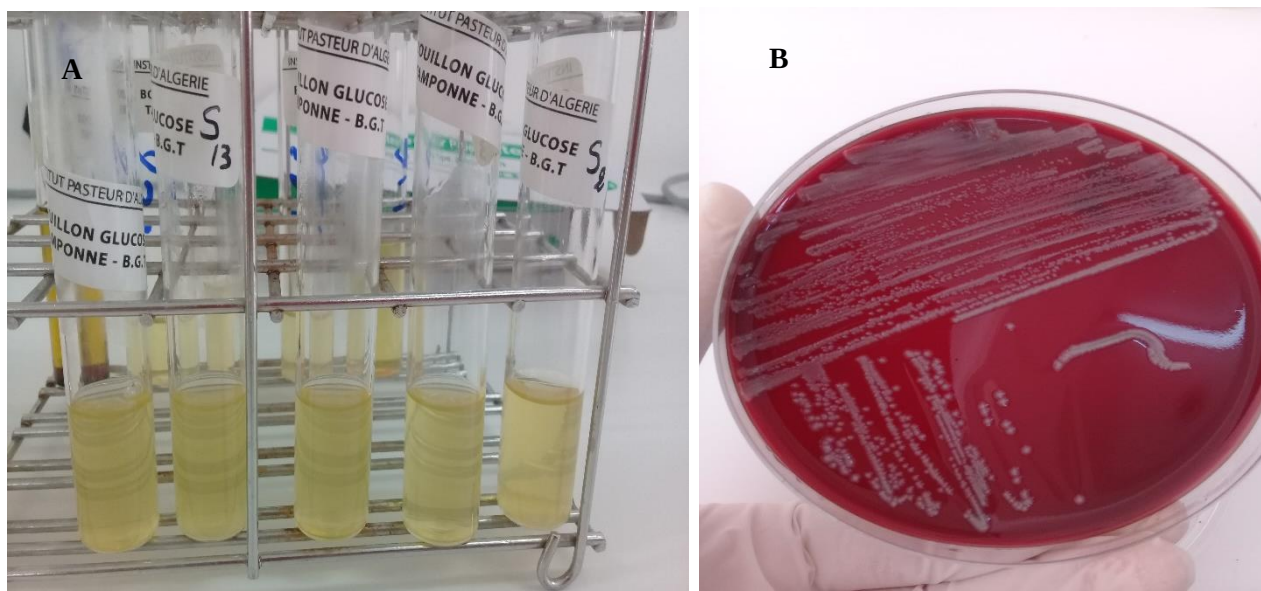


A. Milieu de conservation (tube) et milieu de régénération GN (boîte)
B. Culture d'*A.baumannii* après 24h d'incubation

Figure 15 Régénération sur GN des souches *A. baumannii* conservées.
(Originale)

Après 24 h d'incubation, quelques souches n'ont pas poussé sur GN et il était nécessaire d'utiliser un milieu d'enrichissement, pré-incubé, bouillon glucosé tamponné (BGT) et de repiquer sur une gélose au sang (GS) pour les régénérer.

Après régénération, les souches ont été régulièrement repiquées sur des milieux GN pour conserver des cultures jeunes pour la réalisation des différents tests inclus dans cette étude.



A. Milieux BGT troubles après 24h d'incubation
 B. Culture d'*A.baumannii* sur GS après 24h d'incubation

Figure 16 Régénération sur BGT et GS des souches *A. baumannii* conservées. (Originale)

2.2.1.4 Caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération :

Deux (2) enzymes responsables de la résistance aux C3G chez *Acinetobacter baumannii* ont été recherchées : la BLSE et la CHN.

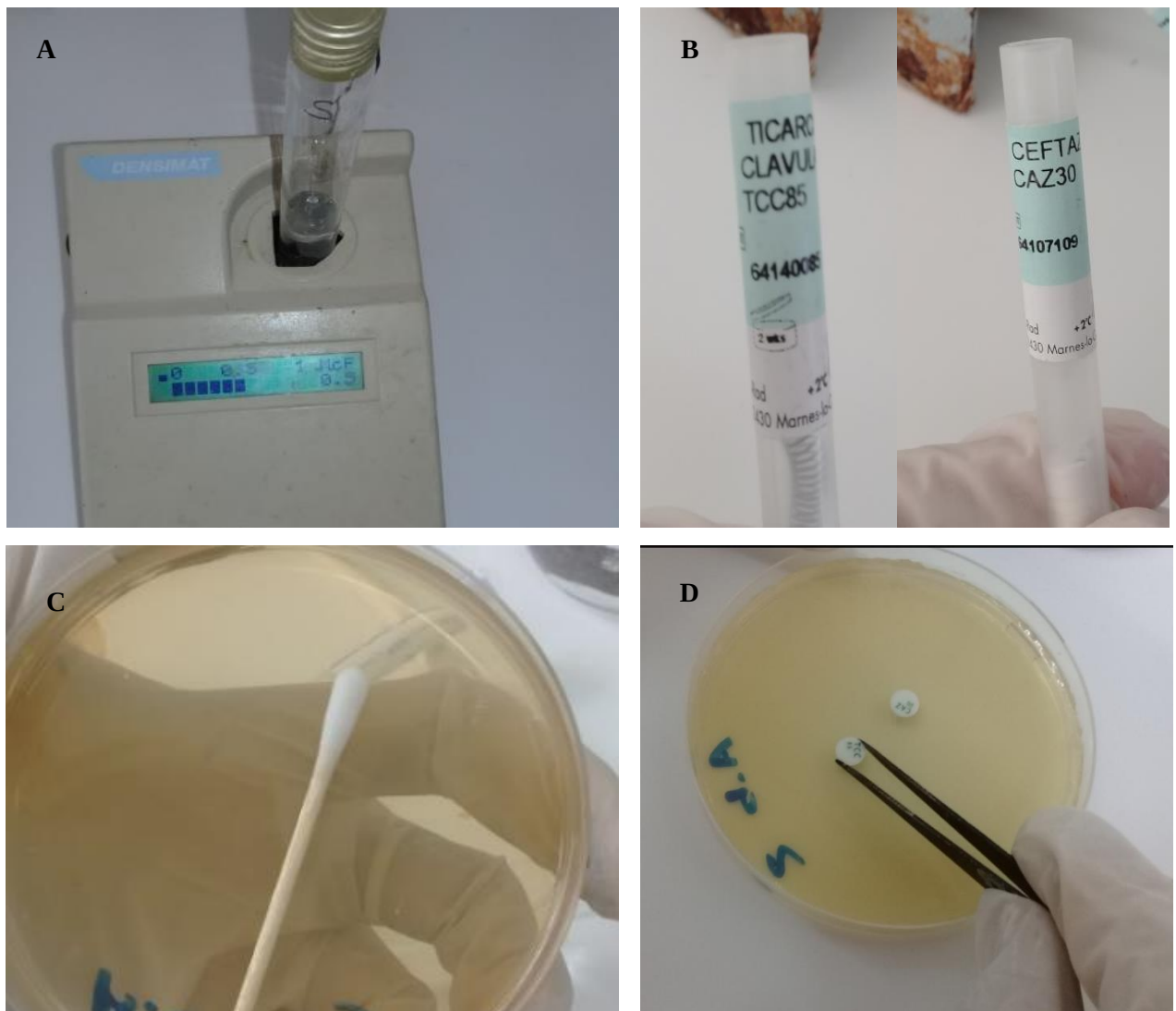
L'ensemble des souches étudiées (15 souches) avait un diamètre d'inhibition autour de la CAZ inférieur à 22mm et présentaient ainsi une indication de la recherche de la BLSE. Cette enzyme a été recherchée en effectuant 2 tests différents : le test de synergie et le test du double disque.

L'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle a été recherchée chez les souches qui ont donné un test de synergie négatif par la réalisation de test à la cloxacilline.

2.2.1.4.1 Test de synergie :

Le test de synergie a été réalisé pour les 15 souches faisant objet de cette étude selon la technique détaillée en annexe 02.

Le test a été refait pour 2 souches (souche n°7 et souche n° 9) qui n'ont pas donné un test positif mais qui présentaient quand même un diamètre d'inhibition augmenté autour de la TCC. Pour reprendre le test, il a été nécessaire de rapprocher les disques de TCC et CAZ à une distance de 15mm.



- A. Préparation de la suspension bactérienne à 0.5McF
- B. Disques d'ATB utilisés pour la réalisation de test
- C. Ensemencement du milieu MH par la suspension bactérienne
- D. Application des disques d'ATB sur le milieu MH ensemencé.

Figure 17 Réalisation du test de synergie (Originale)

2.2.1.4.2 Test à la cloxacilline :

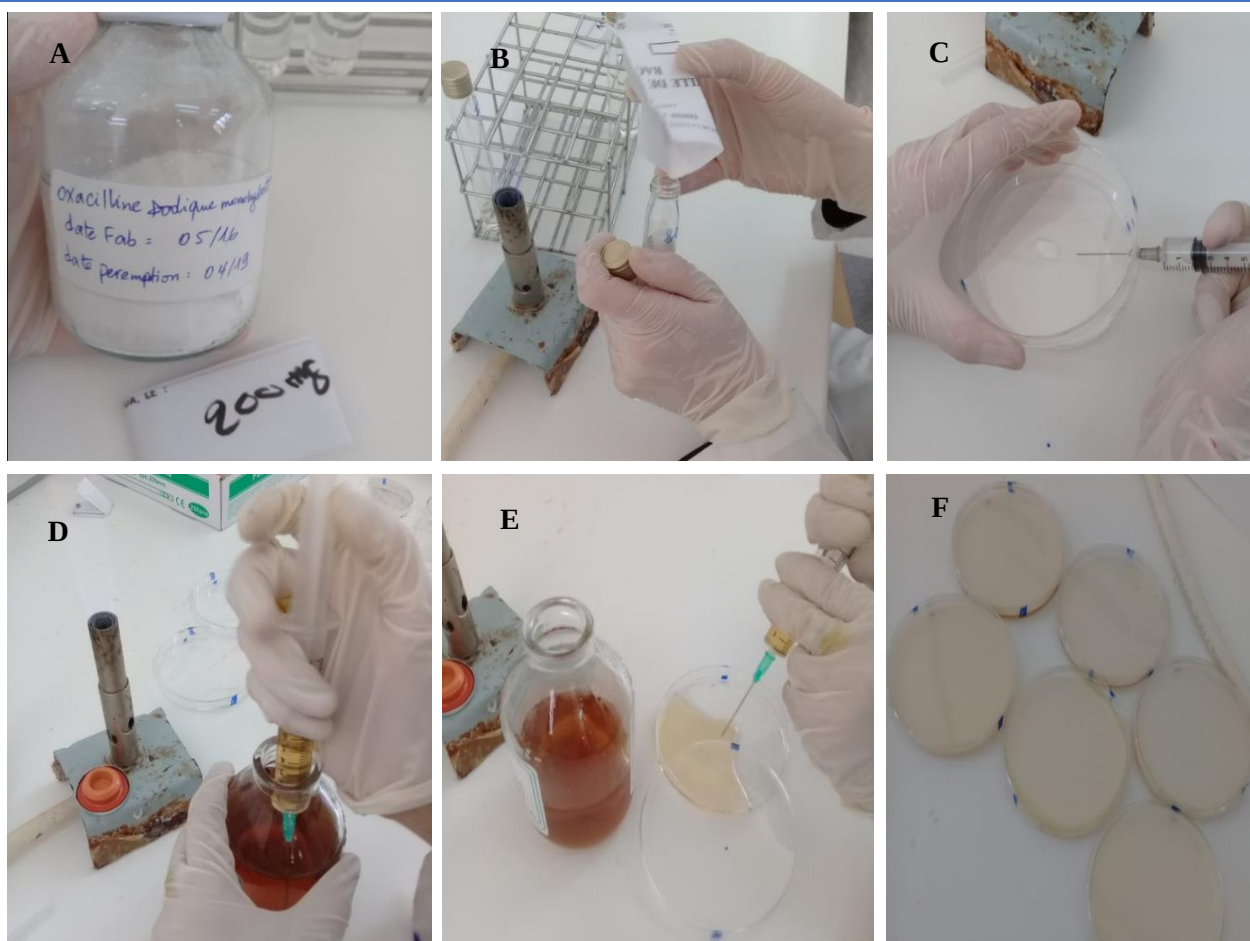
La céphalosporinase hyperproduite a été recherchée chez 14/15 des souches étudiées (ayant donné un test de synergie négatif), par la réalisation du test à la cloxacilline dont la technique est détaillée en annexe 04.

Le milieu utilisé est un milieu MH additionné de cloxacilline et qui a été préparé au niveau du laboratoire, selon le protocole démontré dans le tableau 11 et illustré par la figure 18.

Par défaut de disponibilité de la cloxacilline, le milieu a été préparé par l'oxacilline.

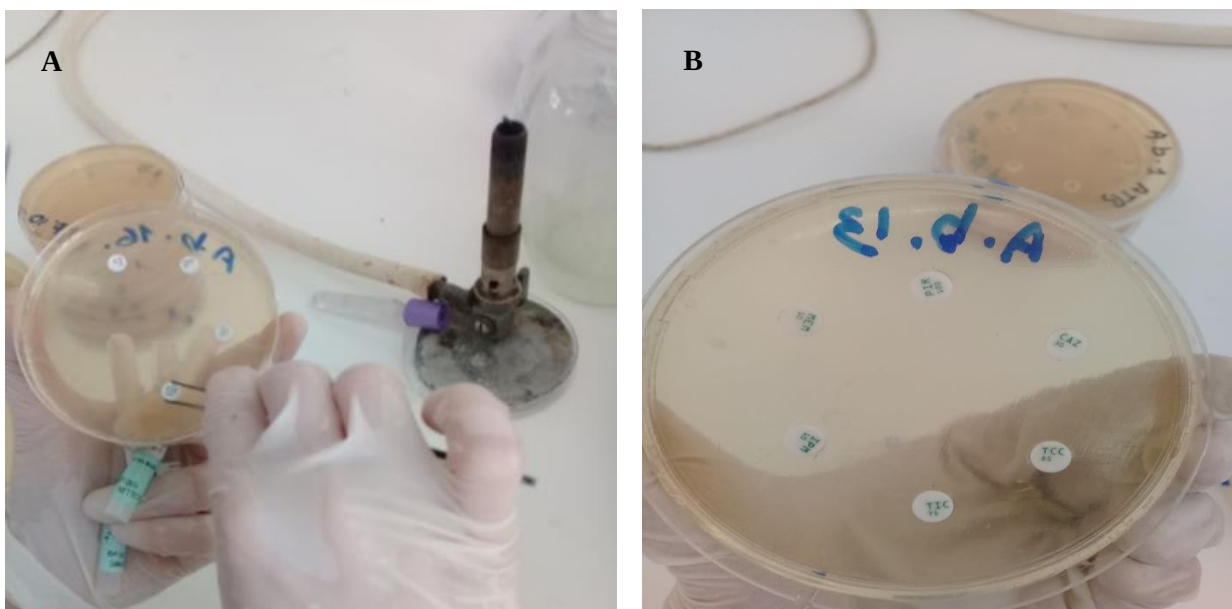
Tableau 11 Préparation des boîtes de cloxacilline (Standardisation nationale 2014)

Concentration de cloxacilline	1mg/ml (1000mg/l)
Préparation de la solution de la cloxacilline	100mg de cloxacilline + 10ml d'eau distillée
Pour une boîte ronde (90mm)	2ml de solution + 18 ml de MH.



- A. Pesée de la poudre de l'oxacilline
- B. Dissolution de la poudre de l'oxacilline dans de l'eau stérile.
- C. injection de 2ml de la solution de l'oxacilline dans une boîte de Pétri.
- D. Prélèvement de 18ml du milieu MH liquide.
- E. Ajout du milieu MH liquide à la boîte contenant la solution de l'oxacilline
- F. Refroidissement des milieux préparés.

Figure 18 Préparation du milieu MH additionné de la cloxacilline (Originale)



A. Dépôt des disques d'ATB

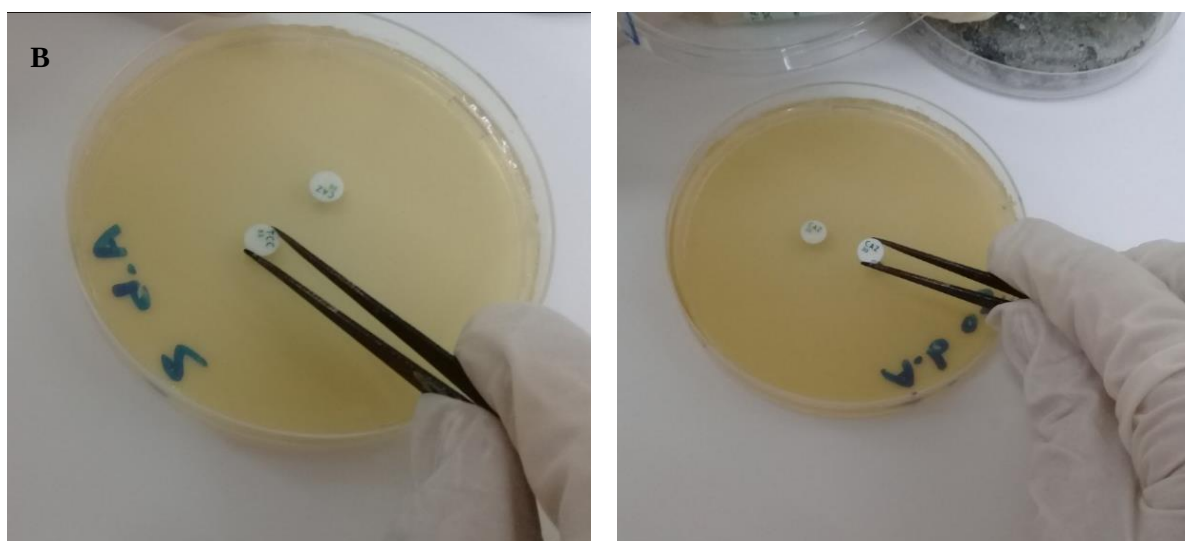
B. L'ensemble des ATB testés : CAZ, PIP, TIC, TCC, IMP, MEM.

Figure 19 Réalisation du test à la cloxacilline (Originale)

2.2.1.4.3 Test du double disque (Test espagnol) :

Un test du double disque, dont la sensibilité est meilleure, a été réalisé en complément au test de synergie pour 4 souches ayant à la fois un test à la cloxacilline et un test de synergie négatifs.

La technique du test est détaillée en annexe 03.



A. Dépôt des disques TCC et CAZ sur une gélose MHensemencée par une suspension à 0.5 McF de la souche à tester.

B. Remplacement du disque de TCC par un disque de CAZ après 1h.

Figure 20 Réalisation du test du double disque (Originale)

La démarche menée pour la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux C3G est schématisée par le logigramme ci-dessous. (Figure 21)

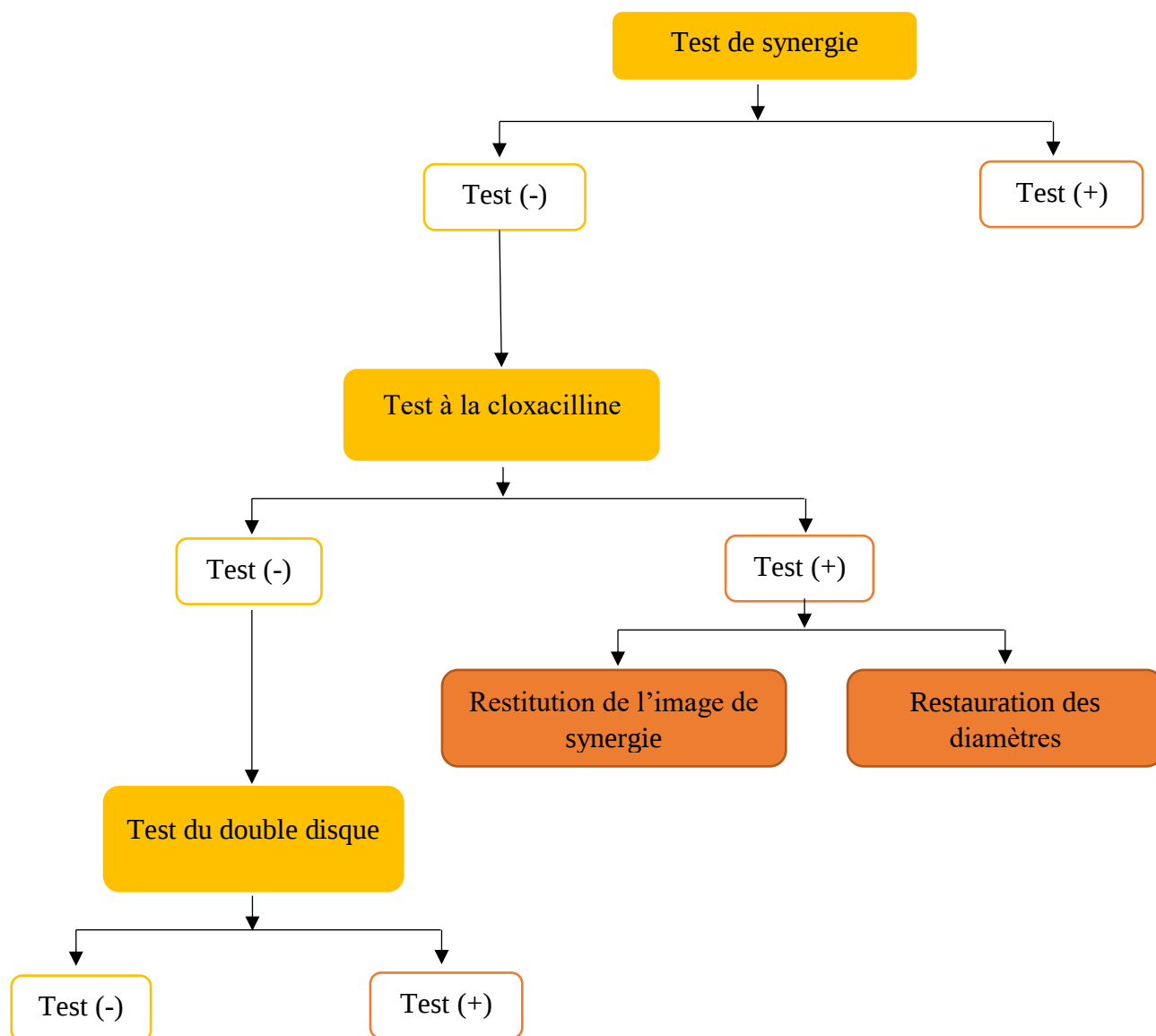


Figure 21 Démarche de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux C3G (Originale)

2.2.1.5 Caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes (Détection et typage des carbapénémases) :

L'ensemble des souches étudiées avait une indication de recherche des carbapénémases, à l'exception d'une seule souche (n°9) qui restait sensible à l'imipénème et présentait à l'antibiogramme un diamètre d'inhibition de 26 mm.

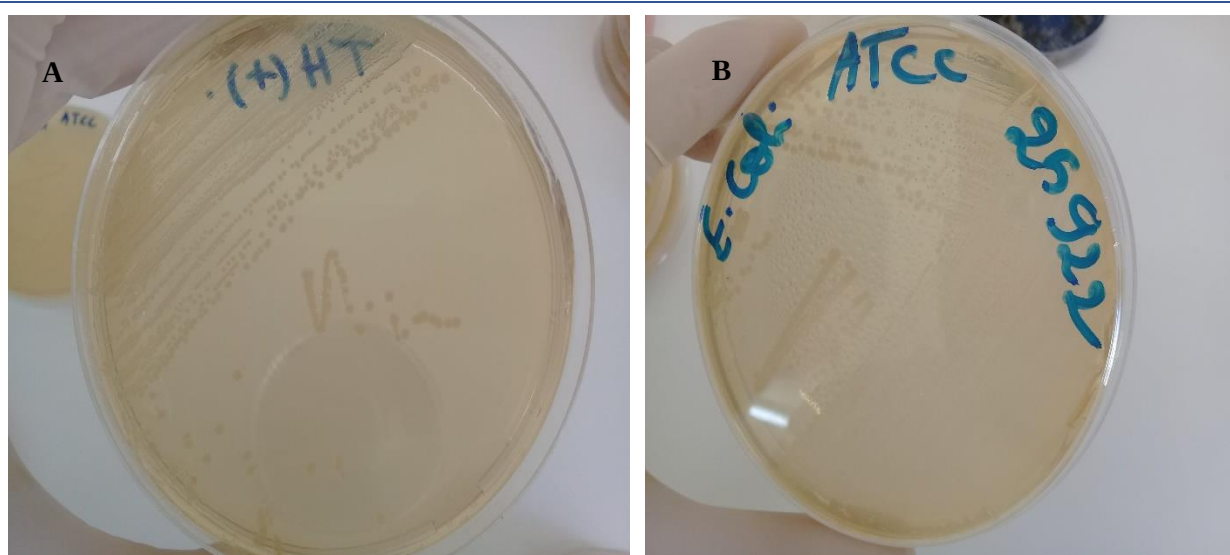
Les carbapénémases ont été recherchées non spécifiquement, par la réalisation du test de Hodge modifié (TH) pour 14 souches ayant indication.

Devant un résultat positif au TH, un test d'EDTA-IMP en disque combiné, a été effectué pour le typage des carbapénémases produites par la souche en MBLs et autres carbapénémases.

En cas de négativité du résultat, un test d'inactivation du carbapénème (Carbapenem inactivation method) a été réalisé à la recherche des autres carbapénémases non détectées par le TH.

2.2.1.5.1 Test de Hodge modifié :

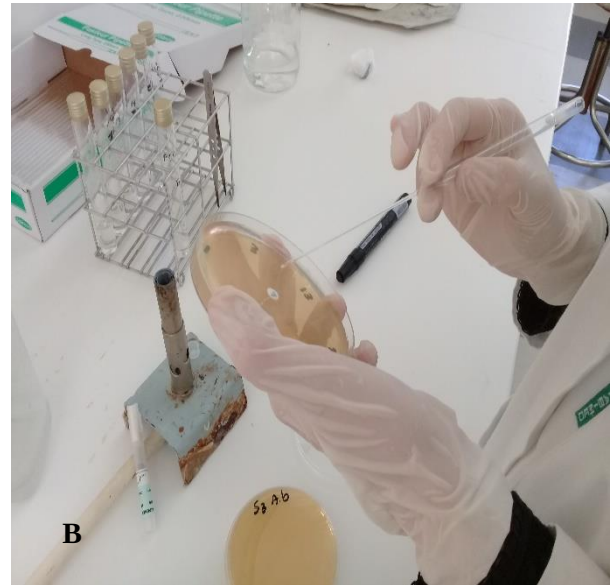
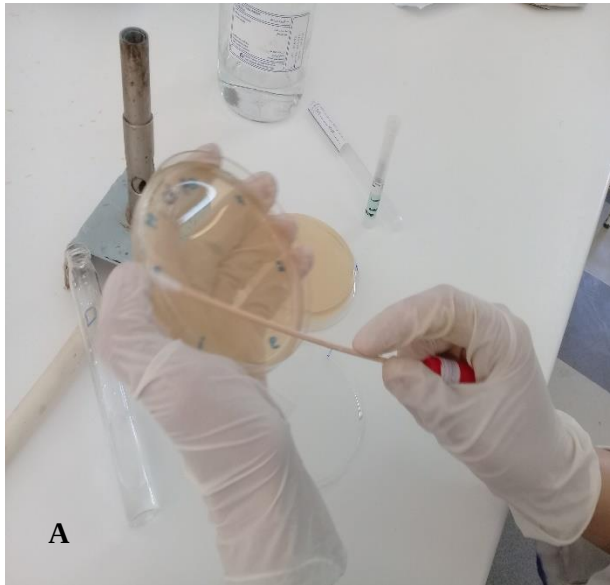
Le test a été réalisé selon la technique détaillée en annexe 06 contre deux témoins : le témoin négatif *E. coli* ATCC 25922 et le témoin positif une KP Carba+ préalablement régénérée sur GN.



A. Témoin positif : *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase.

B. Témoin négatif : *E. coli* ATCC 25922.

Figure 22 Souches de référence pour le contrôle de la qualité du test de Hodge modifié (Originale)

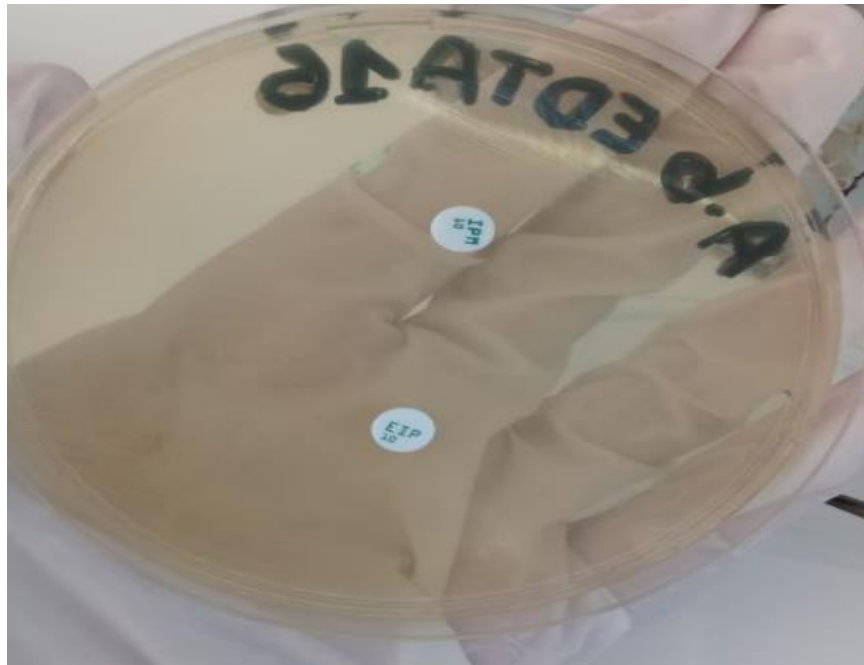


- A. Ensemencement du milieu MH par une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ de la souche révélatrice.
B. Ensemencement des souches à tester.

Figure 23 Réalisation du test de Hodge (Originale)

2.2.1.5.2 Test IMP-EDTA en disque combiné :

La recherche spécifique des MBLs a été réalisée pour 7 souches productrices des carbapénémases (ayant donné un test de Hodge positif) par la réalisation d'un test IMP-EDTA en disque combiné dont la technique est détaillée en annexe 09.



IMP : Imipénème

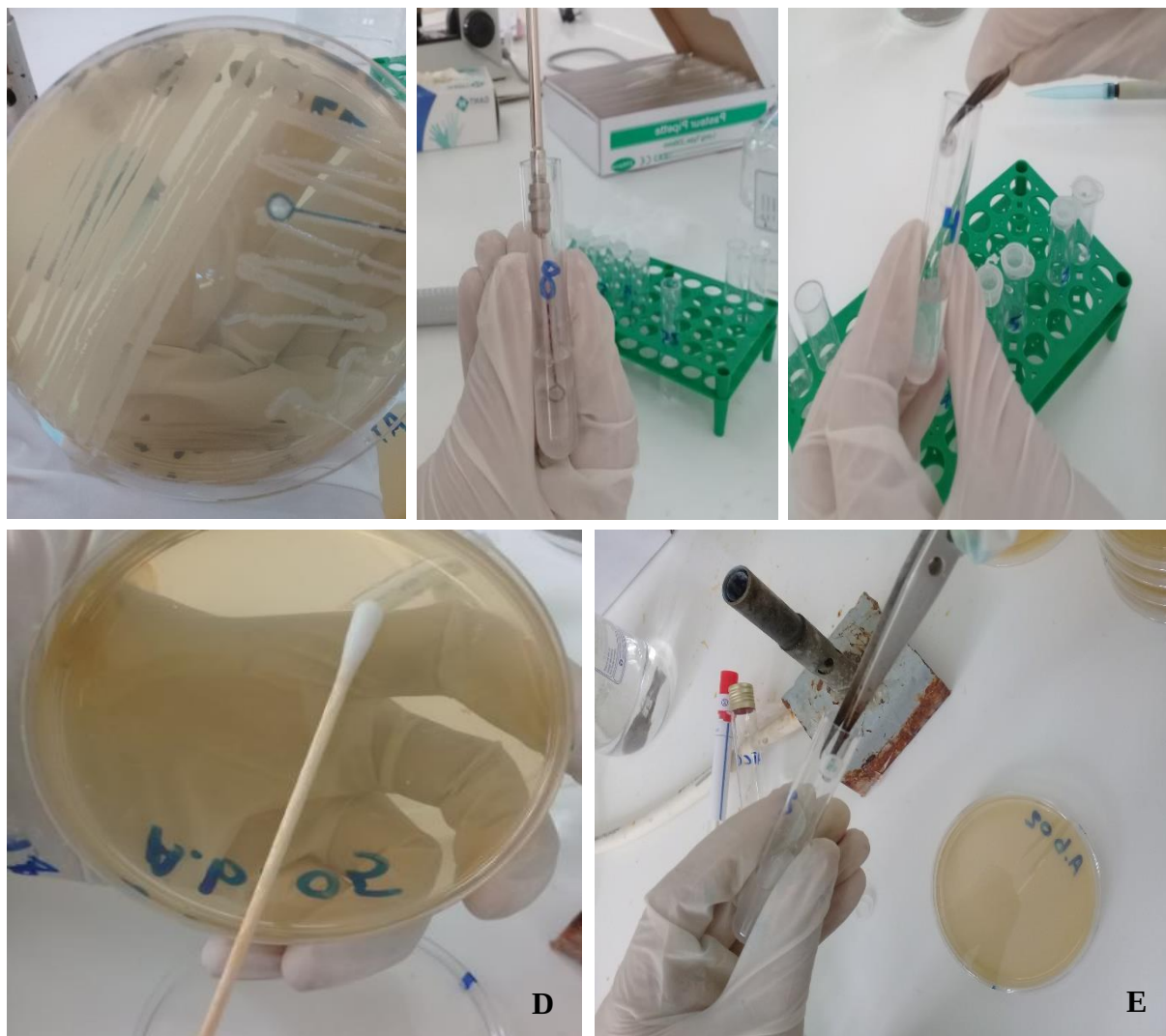
EIP : IMP-EDTA en disque combiné

Figure 24 Réalisation du test d'IMP-EDTA combiné (Originale)

2.2.1.5.3 Test d'inactivation du carbapénème ou Carbapenem inactivation method (CIM) :

Le test d'inactivation du carbapénème a l'avantage de détecter des autres carbapénémases (OXA-48 et OXA-23) que le test de Hodge ne détecte pas. Dans la présente étude, ce test a été effectué pour 7 souches, dont le test de Hodge était négatif et pour une souche (n°4) dont le TH a été positif mais le test de IMP-EDTA en disque combiné a été négatif, dans le but de détecter une éventuelle résistance par production d'autres carbapénémases

Le test a été réalisé selon la technique détaillée en annexe 07



- A. Prélèvement, à l'aide d'une anse de platine calibrée, de la souche à tester à partir de MH.
- B. Préparation d'une suspension bactérienne.
- C. Ajout d'un disque de méropénème à la suspension bactérienne et incubation à 37° pendant 2h.
- D. Ensemencement de la souche révélatrice sur un milieu MH.
- E. Dépôt du disque de méropénème pré-incubé sur le MH ensemencé par la souche révélatrice.

Figure 25 Réalisation du test d'inactivation de carbapénème (Originale)

Le protocole suivi pour caractériser phénotypiquement les mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes est résumé par le logigramme ci-dessous (Figure 26)

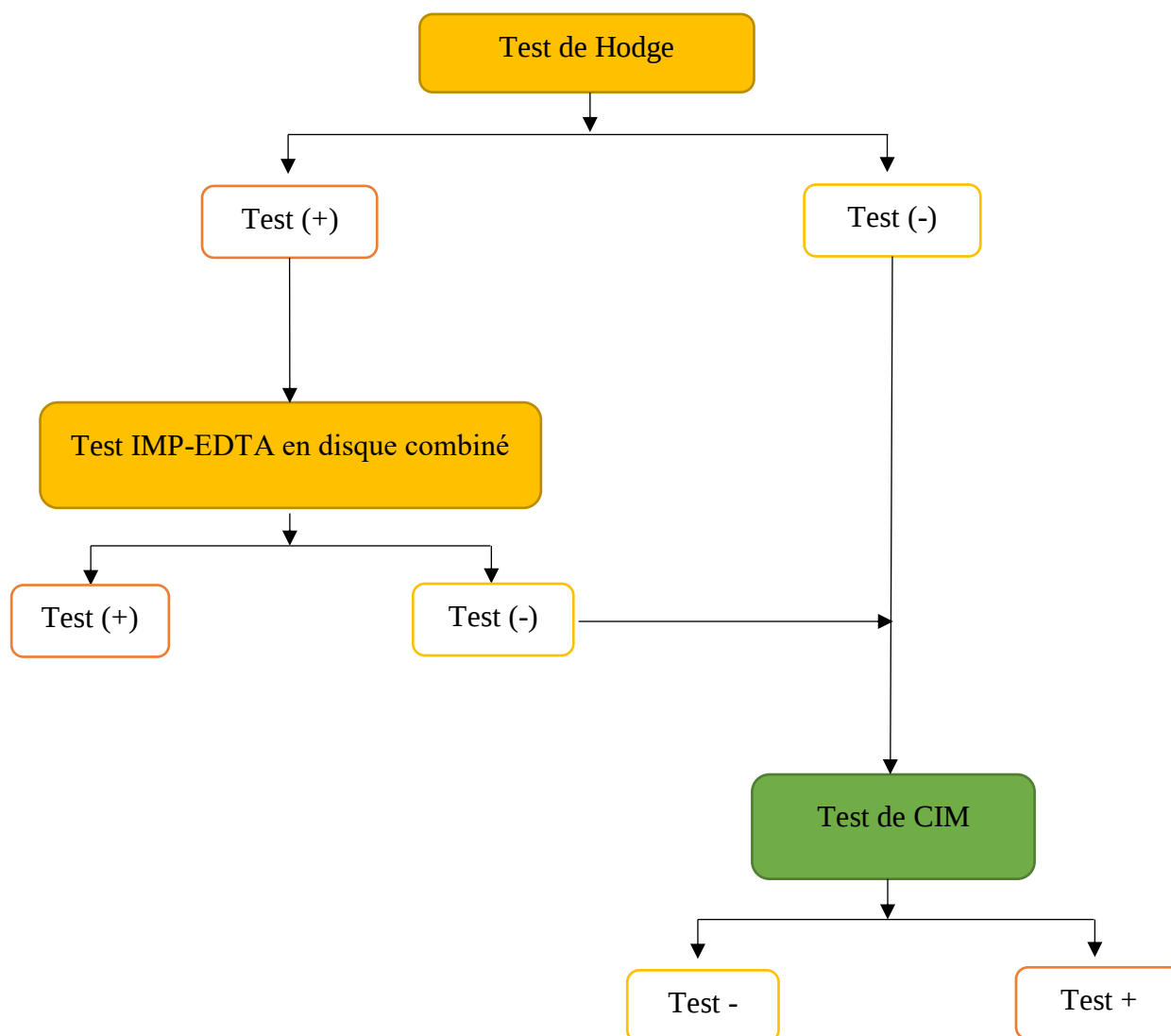


Figure 26 Démarche de la caractérisation des mécanismes enzymatiques de la résistance aux carbapénèmes (Originale)

Résultats

3 Résultats :

3.1 Résultats généraux :

Le nombre total des prélèvements reçus durant la période de l'étude est de 219 prélèvements. Ils se répartissent entre hémocultures (79 soit 36.07%), prélèvements divers (69 équivaut à 31.50%) dont 51 prélèvements distaux protégés (PDP), urines (55 soit 25.11%), LCR (10 soit 4.56 %) et cathéters (06 soit 2.73 %).

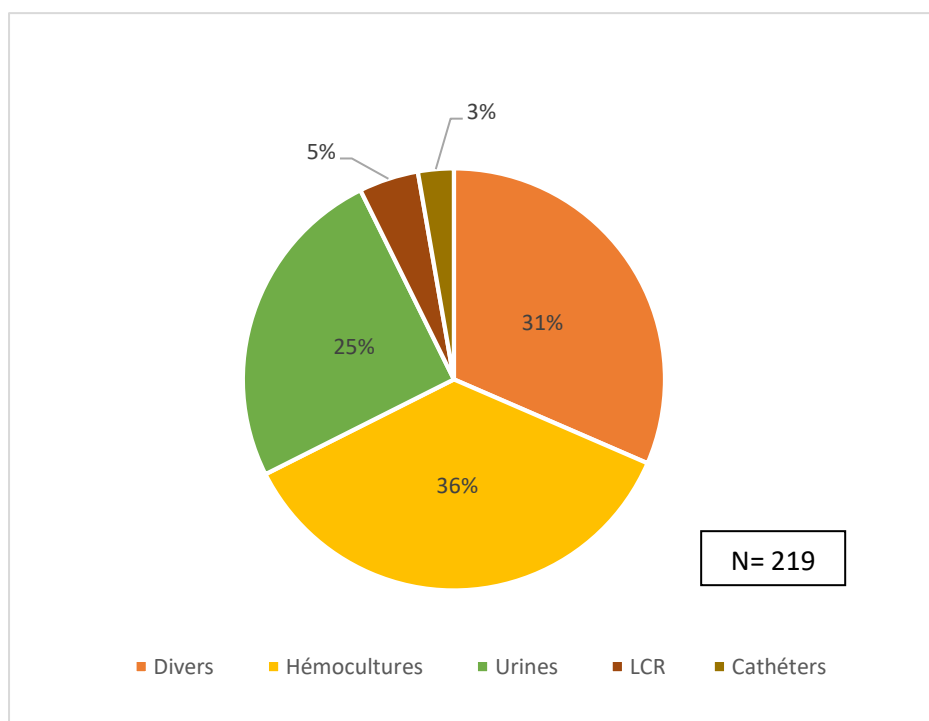


Figure 27 Répartition des prélèvements selon le type. (Original)

Plus du 1/3 des prélèvements (77 prélèvements) ont donné une culture positive. Dans 29 cas le diagnostic bactériologique n'a pas pu être posé à cause de la contamination des prélèvements, Il s'agissait principalement des hémocultures (18 prélèvements soit 8.29%).

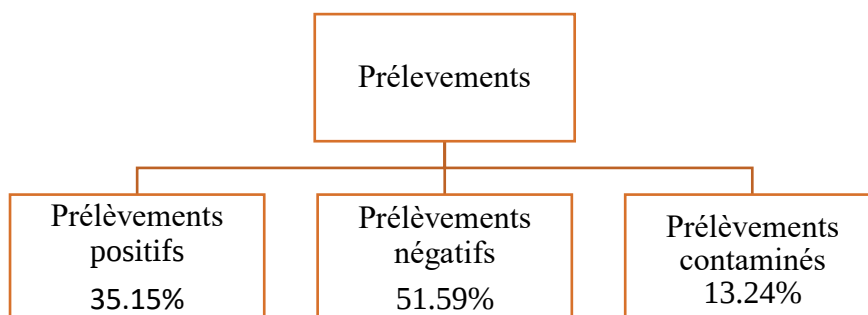


Figure 28 Répartition des prélèvements selon le résultat des cultures. (Originale)

101 étiologies bactériennes ont pu être identifiées durant la période de l'étude. Les bacilles à Gram négatif représentent les germes les plus isolés, soit 67.64% des bactéries retrouvées dans tous les prélèvements, suivi par les Cocci à Gram positif qui constituent 32.35% des bactéries mises en évidence.

Tableau 12 Répartition des bactéries isolées selon les propriétés morpho-tinctoriales (Original)

Classification morpho-tinctoriale	Nombre
Bacilles à Gram négatif	68
Cocci à Gram positif	33
Total	101

Parmi les BGN ; la famille des Enterobacteriaceae est la plus incriminée avec un pourcentage d'isolement de 39.70% (27/68). La famille des Moraxellaceae (Représentée par le genre *Acinetobacter*) vient en 2^{ème} position avec un taux d'isolement de 33.82% (23/68).

Tableau 13 Bacilles à Gram négatif isolés (Original)

Espèces bactériennes		Nombre
Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i>	03
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12
	<i>Enterobacter spp</i>	01
	<i>Proteus mirabilis</i>	05
	<i>Proteus vulgaris</i>	01
	<i>Proteus spp</i>	01
	<i>Enterobacter cloacae</i>	01
	<i>Providencia alcalifaciens</i>	01
	<i>Citrobacter braakii</i>	01
	<i>Enterobacter spp</i>	01
<i>Acinetobacter baumannii</i>		22
<i>Acinetobacter spp</i>		01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		13
<i>Pseudomonas spp</i>		01
<i>Haemophilus influenzae</i>		04
Total		68

Tableau 14 Cocci à Gram positif isolés (Original)

Espèces bactériennes	Nombre
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	03
<i>Streptococcus salivarius</i>	01
Staphylocoque à coagulase négative	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	06
<i>Staphylococcus lugdenensis</i>	01
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	02
<i>Enterococcus faecalis</i>	06
<i>Enterococcus viridans</i>	01
<i>Enterococcus spp</i>	02
<i>Aerococcus spp</i>	01
Total	33

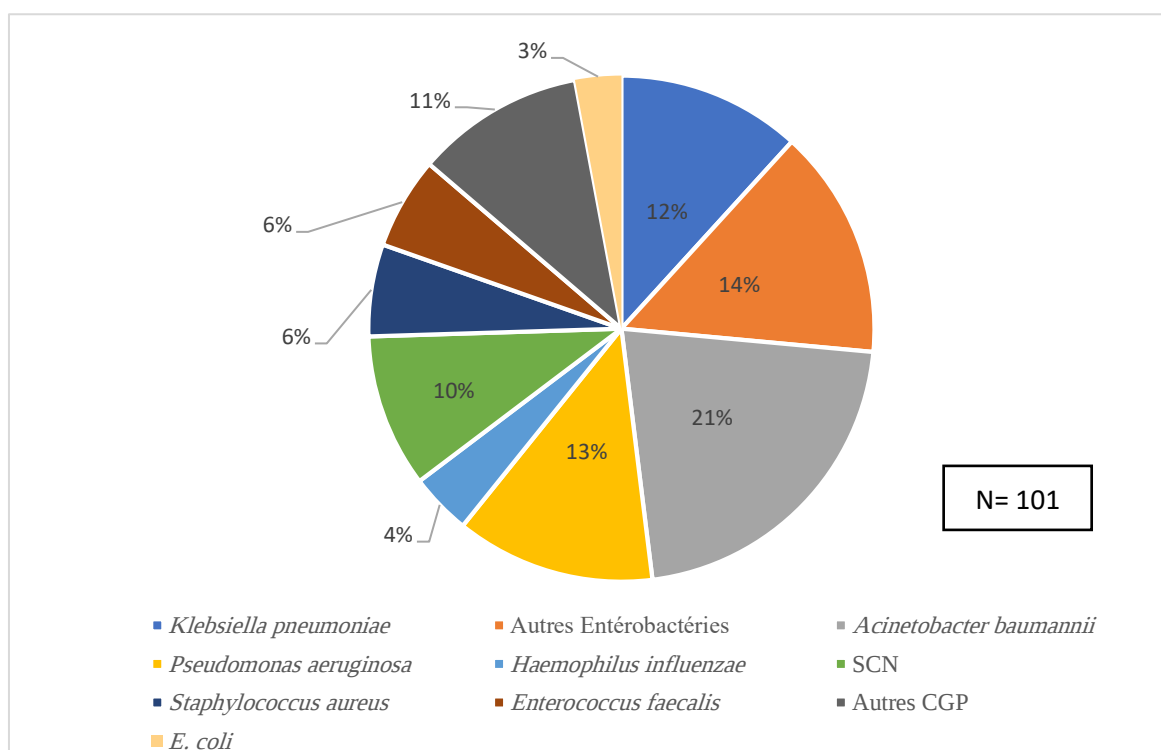


Figure 29 Répartition des bactéries isolées selon l'espèce (Originale)

3.2 *Acinetobacter baumannii* : Incrimination en réanimation et sensibilité aux antibiotiques :

3.2.1 Incrimination en réanimation :

Selon une répartition par espèces (et non pas par familles), *Acinetobacter baumannii* représente 21.78 % (22/101) des bactéries incriminées dans les infections en réanimation polyvalente durant la période d'étude. Il a été principalement isolé au niveau des PDP (17 souches). 03 souches ont été isolées à partir des urines et 02 autres à partir des hémocultures. Aucune souche n'a été isolée ni au niveau du LCR ni des cathéters.

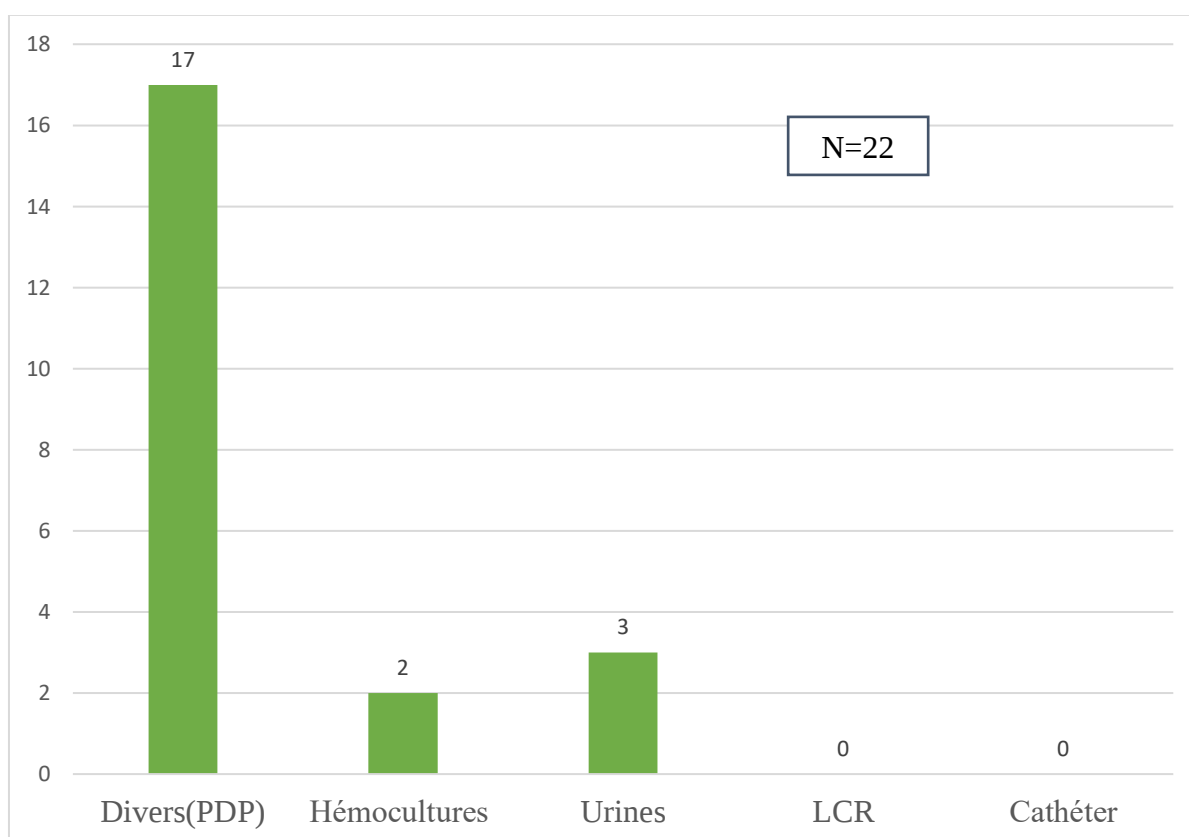


Figure 30 Répartition des souches *A.baumannii* isolées selon le type de prélèvement (Originale)

3.2.2 Résultats de l'étude de la sensibilité aux ATB des souches *A. baumannii* isolées :

Les résultats de l'étude de la sensibilité aux ATB montrent que les souches d'*A.baumannii* expriment une résistance à la quasi-totalité des ATB testés.

Les ATB de la famille des bêtalactamines présentent les taux les plus élevés d'inefficacité vis à vis des souches *Acinetobacter baumannii* testées. La ticarcilline, la pipéracilline et la ceftazidime ne sont plus efficaces sur la totalité des souches testées.

L'imipénème, un ATB de dernier recours dans le traitement des infections à *A. baumannii* MDR, perd complètement son efficacité pour les souches testées. Une seule souche sur 17 pour lesquelles cet ATB a été testé, reste sensible à l'IMP.

Le méropénème, un ATB du même groupe que l'imipénème (carbapénèmes), est à son égard inactif sur l'ensemble des souches testées (07/07).

La résistance croisée à IMP, CAZ et CIP a été notée pour 15 des 22 souches testées. Pour 6 souches, c'est le MER et non pas l'IMP qui a été testé. Ces 6 souches présentaient toutes une résistance croisée au MER, CAZ et CIP.

Néanmoins, il est à noter que la famille des aminosides garde toujours une certaine efficacité sur les souches testées. Alors que la gentamicine perd son efficacité sur la totalité des souches étudiées, 11/20 souches sont sensibles à la tobramycine et 07/21 souches sont sensibles à l'amikacine et sont en même temps sensibles à la tobramycine.

Le cotrimoxazole est également un ATB qui préserve une certaine efficacité sur les *A. baumannii* isolés durant cette étude, 05/20 souches testées restent sensibles au SXT.

Tableau 15 Résultats d'étude de la sensibilité aux antibiotiques. (Original)

Les antibiotiques		Nombre des souches testées	Nombre des souches résistantes	Nombre des souches sensibles
Bêtalactamines	TIC	21	21	00
	TCC	07	07	00
	PIP	22	22	00
	CAZ	22	22	00
	IMP	17	16	01
	MER	07	07	00
Aminosides	AN	21	14	07
	GM	21	21	00
	TM	20	09	11
	NET	02	02	00
Fluoroquinolones	CIP	22	22	00
	LEX	18	18	00
Inhibiteurs des folates	SXT	20	15	05
Cyclines	TE	14	14	00
Rifamycines	RA	01	01	00

3.3 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance :

La caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux bêtalactamines a montré les résultats suivants :

3.3.1 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux C3G :

3.3.1.1 Résultats du test de synergie :

L'image du bouchon de champagne (test positif) n'a été visualisée que pour 1 seule souche des 15 souches qui présentaient une indication de recherche de la BLSE.



Figure 31 Résultat positif d'un test de synergie (Originale)

3.3.1.2 Résultats du test du double disque :

2/4 souches testées ont montré une différence significative des diamètres d'inhibition autour des disques d'ATB témoignant d'une production d'une BLSE.

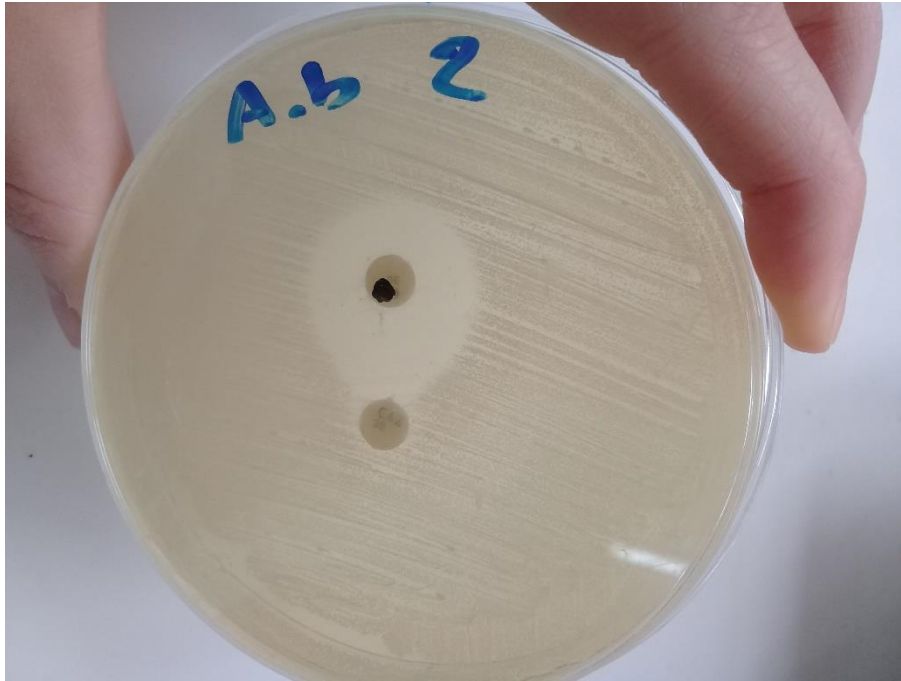


Figure 32 Résultat positif d'un test du double disque.(Originale)

3.3.1.3 Résultats du test à la cloxacilline :

10 souches des 14 souches ayant donné un test de synergie négatif et qui ont été testées par le test à la cloxacilline ont montré une augmentation notable de leurs diamètres d'inhibition autour de la CAZ et la PIP, les 2 ATB touchés par l'activité de la céphalosporinase hyperproduite, signifiant une production de cette enzyme.

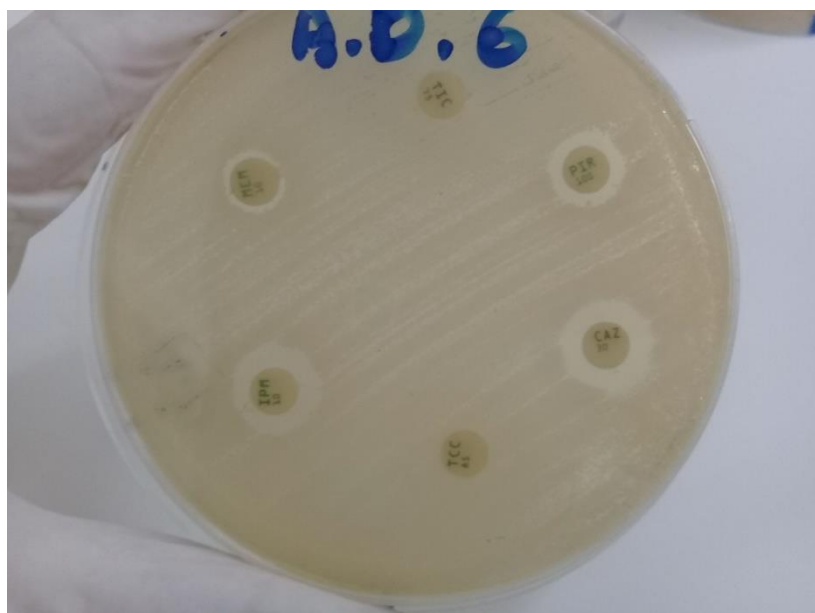


Figure 33 Restauration des diamètres d'inhibition sur milieu MH additionné de la cloxacilline (Originale)

L'ensemble des résultats des tests phénotypiques effectués pour la détection des enzymes responsables de la résistance aux C3G est résumé par la figure 34 et dans le tableau 17 (p 63). La production d'une BLSE a été détectée chez 3/15 souches alors que l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle a été détectée chez 10/ 15 souches. Une association de production de CHN à la synthèse de BLSE n'a été signalée dans aucun cas.

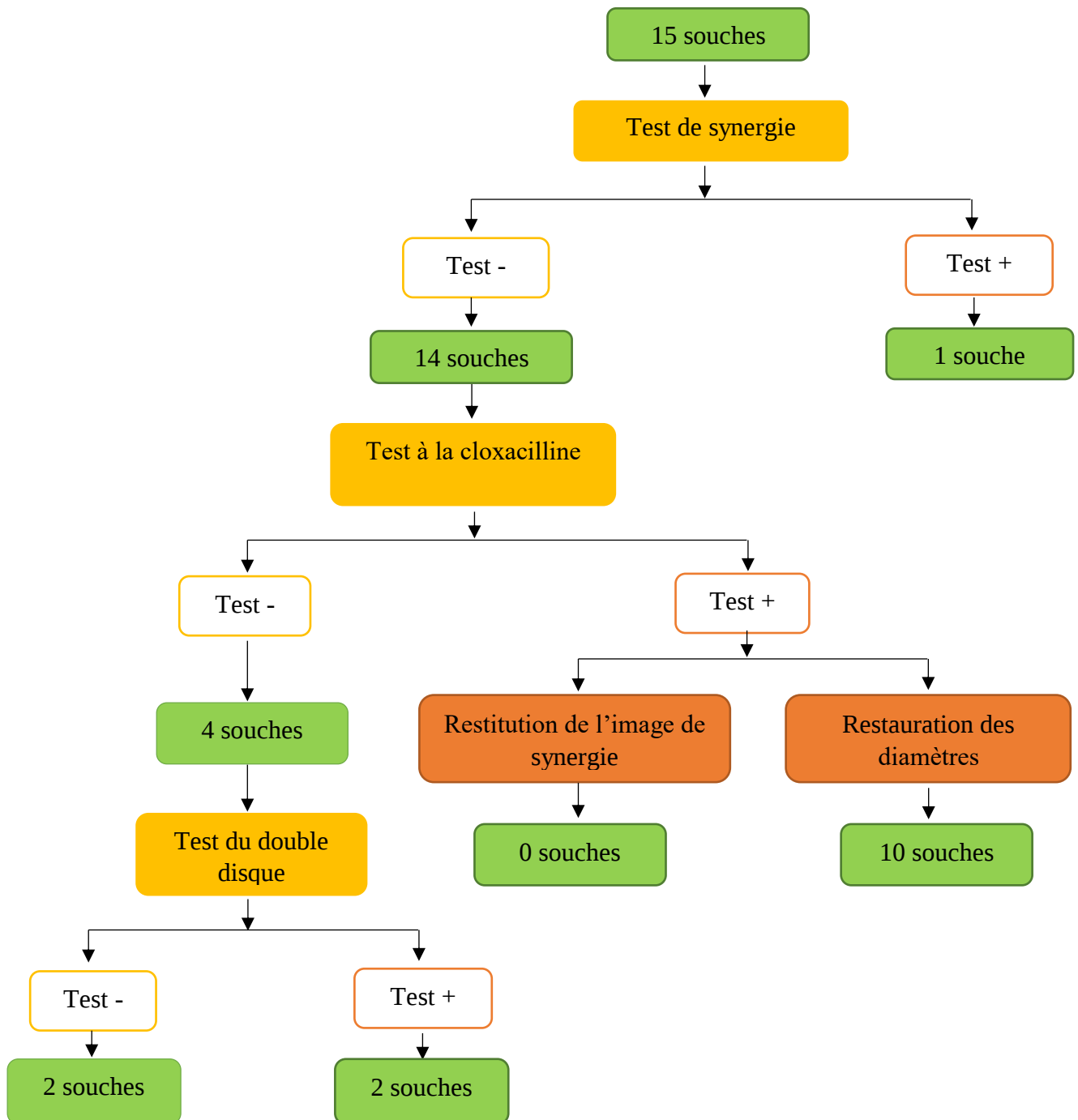


Figure 34 Résultats de l'ensemble des tests phénotypiques de caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux C3G. (Originale)

Tableau 16 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de la résistance aux C3G. (Originale)

Souche	Test de synergie	Test à la cloxacilline	Test du double disque	Résultat
1	-	+	NT	CHN
2	-	-	+	Production de BLSE
3	-	+	NT	CHN
4	-	-	-	Négatif
5	-	-	-	Négatif
6	-	+	NT	CHN
7	-	-	+	Production de BLSE
8	-	+	NT	CHN
9	+	NT*	NT	Production de BLSE
10	-	+	NT	CHN
11	-	+	NT	CHN
12	-	+	NT	CHN
13	-	+	NT	CHN
14	-	+	NT	CHN
15	-	+	NT	CHN

*NT : Non testée.

3.3.2 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes :

3.3.2.1 Résultats du test de Hodge modifié :

Parmi les 14 souches qui exprimaient une résistance aux carbapénèmes et qui étaient testées par le test de Hodge modifié, 7 souches ont donné un test positif.

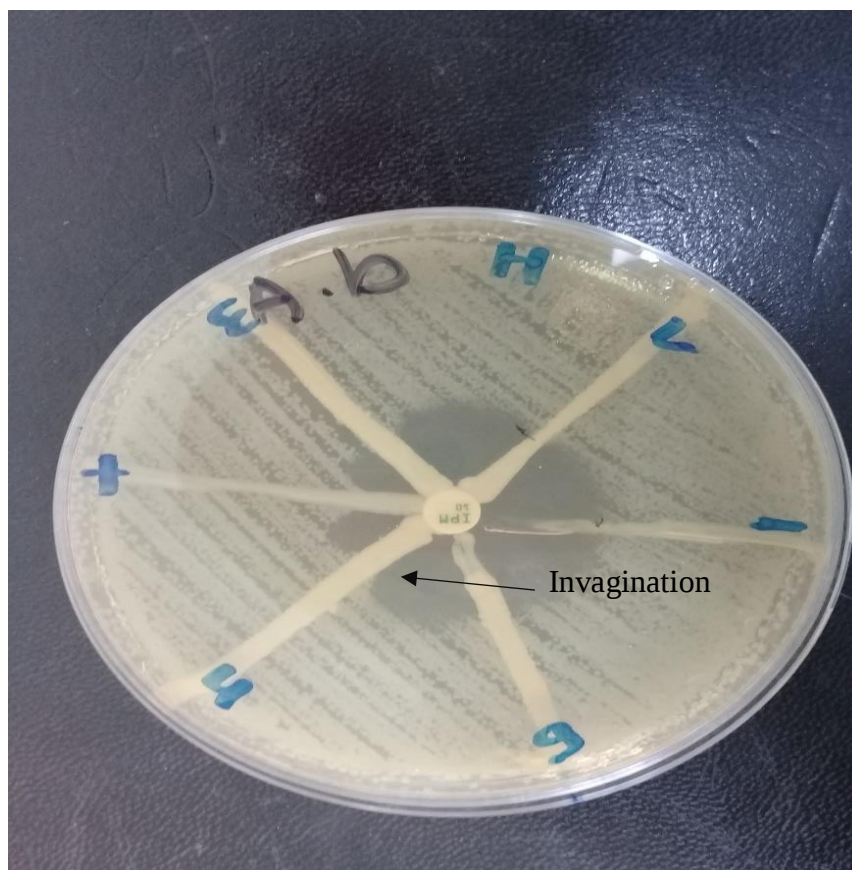


Figure 35 Résultat positif d'un test de Hodge modifié.
(Originale)

3.3.2.2 Résultats du test d'IMP-EDTA combiné :

6 souches ayant donné un test de Hodge positif ont également donné un test EDTA-IMP en disque combiné positif témoignant que les carbapénémases produites par les souches testées sont de la classe B d'Ambler (Métallo bêtalactamases).



Figure 36 Résultat positif d'un test IMP-EDTA en disque combiné (Originale)

3.3.2.3 Résultats du test d'inactivation du carbapénème ou Carbapenem inactivation method (CIM) :

Le test de CIM a été réalisé pour 8 souches qui ont donné un test de Hodge et un test EDTA-IMP en disque combiné négatifs. Parmi ces souches, 3 souches ont donné un test positif.



Figure 37 Résultat positif d'un test CIM (Originale)

La réalisation des tests TH, EDTA-IMP en disque combiné et la CIM a permis de révéler les résultats résumés sur la figure 38 et dans le tableau 18 (p 69).

La production d'une carbapénémase a été détectée chez 09/ 14 souches testées. 06/09 de ces enzymes se sont révélées des MBL.

Le Test de CIM a permis la détection de 2 carbapénémases non détectées par le test de Hodge modifié.

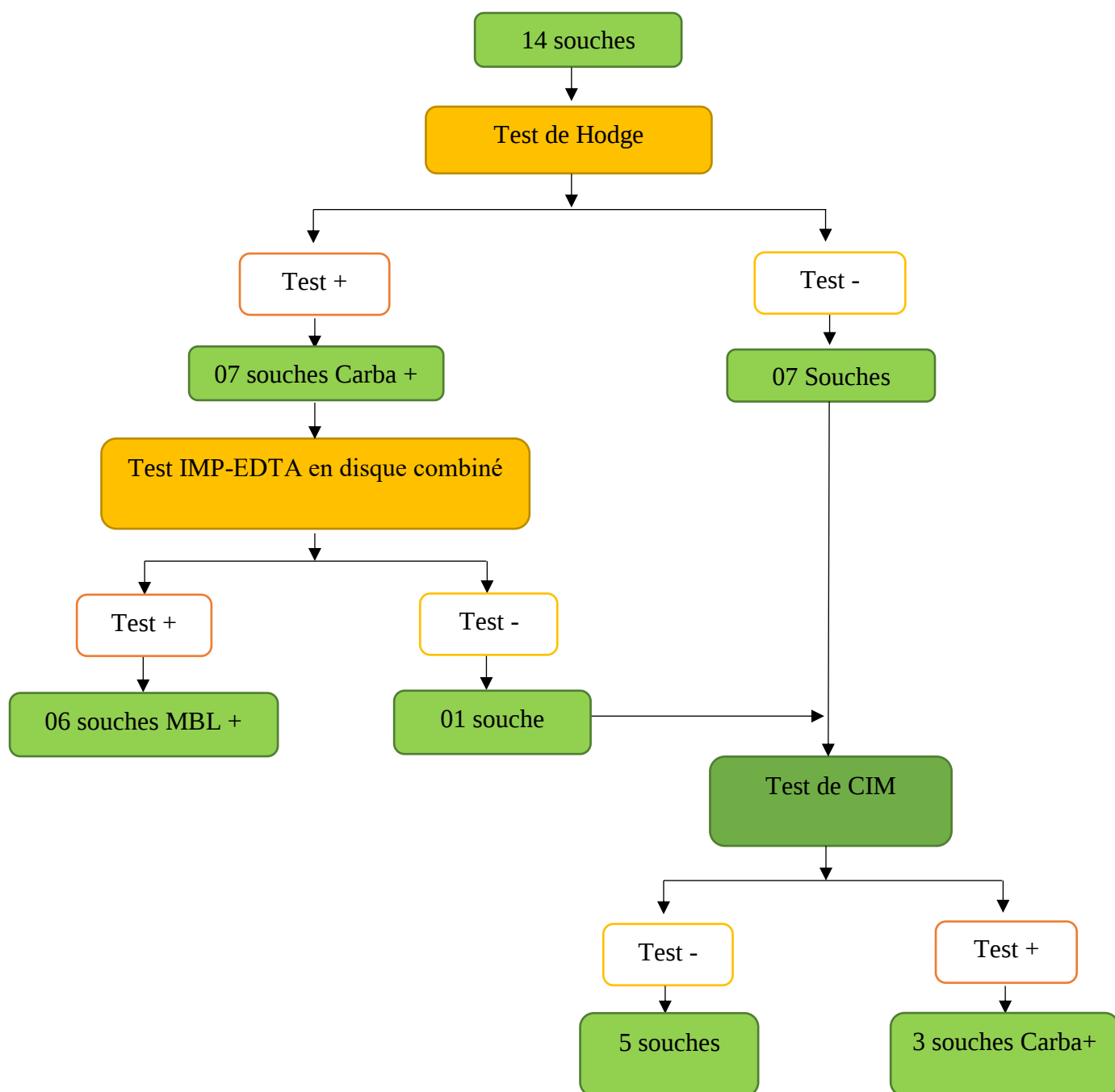


Figure 35 Résultats de l'ensemble des tests phénotypiques effectués pour la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux carbapénèmes. (Originale)

Tableau 17 Résultats de la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux carbapénèmes. (Original)

Souche	Test de Hodge	Test de CIM	Test IMP-EDTA en disque combiné	Résultat
1	-	+	*NT	Production d'une carbapénémase
2	-	-	NT	Négatif
3	+	NT	+	Production d'une MBL
4	+	+	-	Production d'une carbapénémase
5	-	+	NT	Production d'une carbapénémase
6	-	-	NT	Négatif
7	-	-	NT	Négatif
8	-	-	NT	Négatif
10	+	NT	+	Production d'une MBL
11	+	NT	+	Production d'une MBL
12	+	NT	+	Production d'une MBL
13	+	NT	+	Production d'une MBL
14	+	NT	+	Production d'une MBL
15	-	-	NT	Négatif

*NT : Non testée

De l'ensemble des résultats de différents tests phénotypiques effectués, on remarque que le mécanisme dominant de la résistance aux C3G est l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle qui est exprimée chez 10 des 15 souches testées. La production de la BLSE n'a été enregistré que chez 3 souches sur les 15 étudiées.

Dans aucun cas, la surexpression de la céphalosporinase naturelle n'a été associée à la production d'une BLSE.

Pour les souches résistantes à l'imipénème, la production d'une carbapénémase a été remarquée chez 09 souches des 14 souches étudiées. Parmi ces producteurs de carbapénémase, 7 souches ont été détectées par le test de Hodge et 2 autres souches ont été détectées par le test d'inactivation du carbapénème CIM. Les MBLs représentent la famille des carbapénémases les plus produites par ces souches (6/09 souches).

Le tableau 19 résume les résultats obtenus par les différents tests, pour l'ensemble des souches testées.

Tableau 18 Résultats de l'ensemble des tests phénotypiques (Original)

Souche	Test de synergie	Test à la cloxacilline	Test du double disque	Test du double disque	Test de Hodge	Test IMP-EDTA combiné	Test de CIM	Résultat
1	-	+	NT	NT	-	*NT	+	CHN + Carbapénémase
2	-	-	+	+	-	NT	-	Production de BLSE
3	-	+	NT	-	+	+	NT	CHN + MBL
4	-	-	-	-	+	-	+	Carbapénémase
5	-	-	-	-	-	NT	+	Carbapénémase
6	-	+	NT	-	-	NT	-	CHN
7	-	-	+	+	-	NT	-	Production de BLSE
8	-	+	NT	-	-	NT	-	CHN
9	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Production de BLSE
10	-	+	NT	-	+	+	NT	CHN + MBL
11	-	+	NT	-	+	+	NT	CHN + MBL
12	-	+	NT	-	+	+	NT	CHN + MBL
13	-	+	NT	-	+	+	NT	CHN + MBL
14	-	+	NT	-	+	+	NT	CHN + MBL
15	-	+	NT	-	-	NT	-	CHN

*NT : Non testée

Suivant les définitions annoncées dans le chapitre III : La multirésistance chez *Acinetobacter baumannii*, les 15 souches étudiées peuvent être catégoriser selon l'étendue de la résistance comme suit (tableau 20).

Tableau 19 Catégorisation des souches selon l'étendue de la résistance (Original)

Souche	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15
Type	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	MDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR	XDR/PDR

Il est à noter que la grande majorité des souches (14/15) sont des souches ultrarésistantes ou totorésistantes. Une seule souche est multirésistante.

Au terme de la partie pratique du présent travail, un logigramme (page suivante) pour la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux bêtalactamines a été établi. (Figure 39, p72)

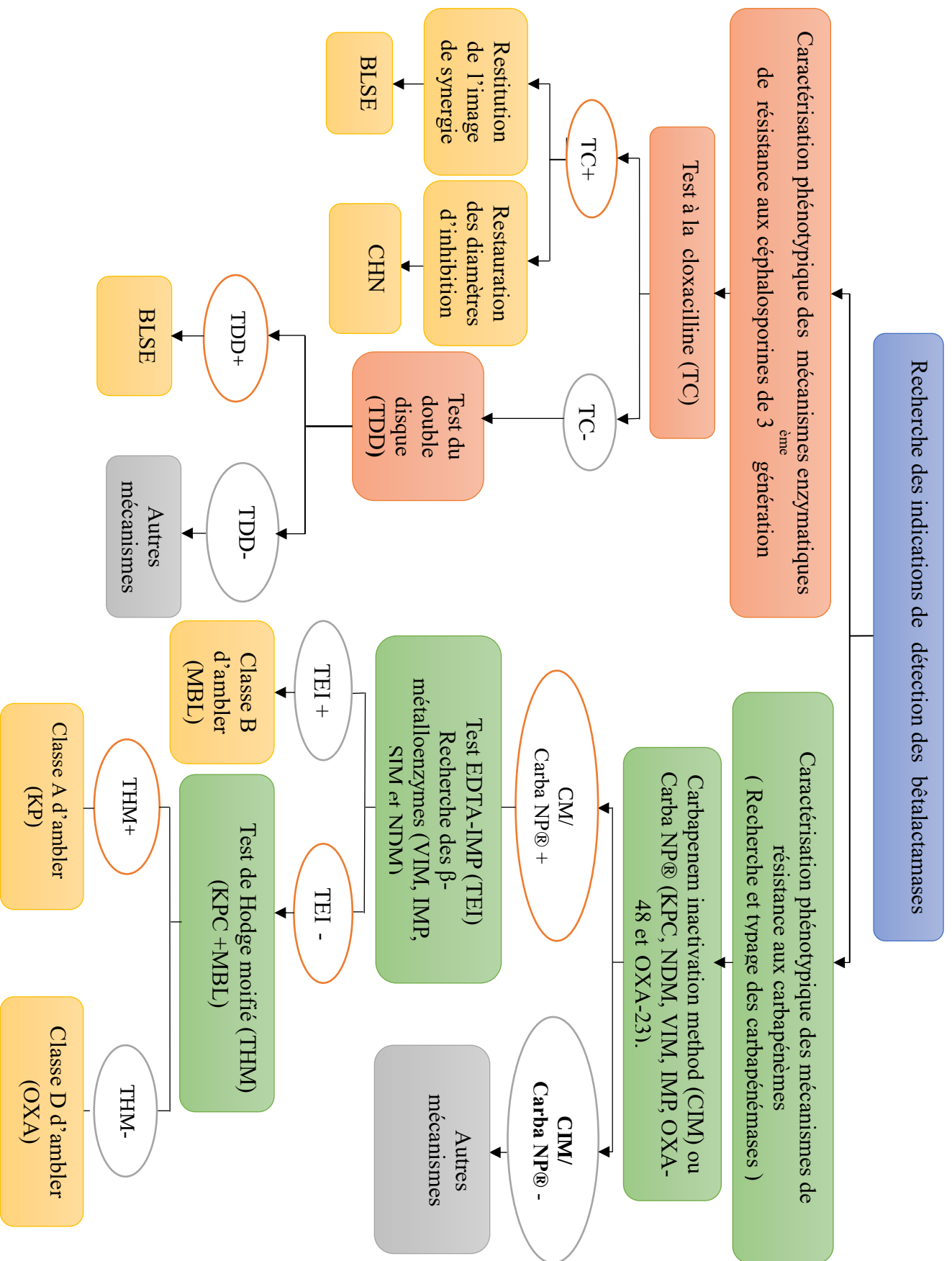


Figure 36 Démarche proposée pour la caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux bêta-lactamines. (Original)

Discussion

4 Discussion :

Une étude prospective a été menée afin d'évaluer l'implication en pathologie d'*Acinetobacter baumannii* et d'*Acinetobacter baumannii* multirésistant au sein de l'unité de réanimation polyvalente du service des UMC du CHU Blida- Unité FRANTZ Fanon durant une période étalée sur 3 mois (de 02 janvier à 31 mars 2018).

Durant la période de l'étude, 219 prélèvements à visée exclusivement diagnostique ont été recensés et 77 (35.15%) de ces prélèvements sont revenus positifs. Ces taux d'infection sont élevés mais ne sont pas surprenant compte tenu du fait que les patients admis en réanimation sont les patients très fragilisés et sensibles à l'infection en raison de leurs pathologies sous-jacentes souvent graves, leur état d'immunodépression et les nombreux actes invasifs qu'ils subissent. (P. YLIPALOSAARI, 2007)

Une étude plus étalée dans le temps aurait démontré plus visiblement les taux d'infections bactériennes chez le malade admis en réanimation polyvalente.

Les hémocultures représentent le prélèvement le plus couramment reçu par l'unité de bactériologie durant la période de cette étude. Elles représentent 36.07% (79 /219) des prélèvements (occupant la 1^{ère} position) avec un taux de positivité de 10.9% et un taux de contamination de 8.21%. Les SCN sont les germes contaminants les plus isolés.

Ces résultats concordent parfaitement à ceux d'une étude rétrospective réalisée au centre hospitalier régional et universitaire de Nancy en France (2010-2014) qui a révélé que les hémocultures sont les prélèvements les plus fréquemment effectués (37% des prélèvements) mais seulement 5-10% de ces prélèvements sont positifs. La contamination des hémocultures est très fréquente, elle représente 6 – 12,5% dans certains services. (A. Nejla, 2015)

Ces contaminations sont source de difficultés d'interprétation de prélèvement et peuvent conduire à une surestimation de la réalité de l'infection et par conséquent à une utilisation accrue et irrationnelle des antibiotiques. (H. Kallel et al, 2006). Seul le respect rigoureux des recommandations de réalisation des hémocultures permettra de pallier à ces problèmes. Dans cette optique, une fiche de recommandations a été établie.

Selon les résultats de la présente étude, 101 étiologies bactériennes ont été mises en évidence dans l'ensemble des prélèvements. Les bactéries les plus fréquemment isolées étaient des BGN (67.32%) représentées principalement par la famille des Enterobacteriaceae qui représentait 39.70% des BGN et 26.73% de l'ensemble des bactéries incriminées. Les CGP représentaient 32.67% des bactéries isolées avec prédominance des staphylocoques à coagulase négative (09/101 soit 08.91%).

Ces résultats diffèrent de ceux annoncés par le REA-Raisin en 2016 où les micro-organismes les plus fréquemment isolés dans les services de réanimation français sont le BGN non fermentant *Pseudomonas aeruginosa* (19,90%) suivi par les CGP *Staphylococcus aureus* (13,5%) et *Staphylococcus epidermidis* (12,10%).

Acinetobacter baumannii a été isolé dans 22 prélèvements sur les 219 recensés, soit 21.56% de l'ensemble des bactéries isolées. Il est alors l'espèce bactérienne la plus incriminée en pathologie chez les malades admis en réanimation polyvalente du CHU de Blida durant les

3 mois de l'étude. Ces résultats s'accordent parfaitement avec les résultats de l'étude réalisée au niveau du service de réanimation polyvalente du CHU la Rabta- Tunis en Tunisie où *A. baumannii* était en 1^{ère} position et représentait 29.20% des microorganismes les plus fréquemment isolées. (A. Trifi et al, 2017)

Selon les résultats de la présente étude, *Acinetobacter baumannii* a été isolé dans 17 cas à partir des prélèvements distaux protégés. Il est également le germe le plus isolé (17/ 51) à partir de ces prélèvements durant la période d'étude, un résultat proche de celui rapporté par [RADI. O \(2017\)](#) où *Acinetobacter baumannii* était en pole position (47%) des germes isolés à partir des prélèvements distaux protégés provenant du service de réanimation du CHU Hassan II- Fès entre 1 janvier 2015 et 31 décembre 2016.

Ces données élucident l'implication de ce pathogène dans les pneumopathies chez les malades sous ventilation assistée, procédure médicale trop pratiquée en réanimation, qui est considérée comme un des facteurs de risque d'acquisition d'une infection à *A. baumannii*. (L. S. Munoz-Pricela et R. A. Weinstein, 2008)

L'étude de la résistance chez *A. baumannii* a révélé un taux alarmant de résistance aux différentes familles d'antibiotiques.

La totalité des souches (22/22 souches) étaient résistantes à la ceftazidime, un résultat supérieur à celui retrouvé dans une étude au Maroc (18/27) ([EL GHAZOUANI.G, 2010](#)).

16/17 souches étaient résistantes à l'imipénème et la résistance aux fluoroquinolones est aussi très inquiétante, en effet, la totalité des *Acinetobacter baumannii* étaient résistantes à la ciprofloxacine et à levofloxacine.

Acinetobacter baumannii exprimait une résistance variable aux molécules de la famille des aminosides : toutes les souches testées (21/21) étaient résistantes à la gentamicine, 14/21 à l'amikacine alors que 09/20 uniquement étaient résistantes à la tobramycine. Malgré les différences numériques, ce profil peut être comparé à celui enregistré lors d'une étude menée à l'unité de réanimation du CHU de Tlemcen en 2011 où les souches étaient très résistantes à l'amikacine et à la gentamycine (23/27 et 19/27 souches résistantes respectivement) alors que la tobramycine conservait son activité (5/27 souches résistantes). ([RABHI. F, 2011](#))

L'activité conservée de la tobramycine doit faire l'objet d'études complémentaires en matière d'étude de la sensibilité à cette molécule par ailleurs une rationalisation de son utilisation doit être envisagée pour la garder toujours comme une alternative thérapeutique pour les souches *A. baumannii* multirésistant.

Pour ce qui est de l'étude phénotypique des mécanismes enzymatiques de résistance aux antibiotiques de la famille des bêtalactamines, la production de plusieurs enzymes inactivatrices de ces ATB a été mise en évidence. La présente étude a révélé que l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle est un phénomène nettement plus rencontré chez les 15 souches étudiées en comparaison à la production de la bêtalactamase à spectre étendu. Ces résultats rejoignent ceux de plusieurs études qui confirment que l'isolement de souches productrices de bêtalactamases à spectre étendu restent un phénomène rare chez *A. baumannii*. ([M. A. Rezaee et al 2016](#), [S. Marzieh et al, 2016](#) ; [A. BOUALI, 2015](#)) alors que la céphalosporinase hyperproduite est souvent responsable de la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération. ([M. H. Al-Agamy et al, 2014](#))

Un nombre élevé (09/14) de souches productrices de carbapénémases a été enregistré. Un résultat non contradictoire avec plusieurs études. ([Drissi M et al, 2010](#) ; [S. Marzieh et al,](#)

2016). L'étude de [N. Djahmi et al](#) a révélé que dans 21 pays Méditerranéens des 3 continents (Europe, Asie et Afrique) dont l'Algérie, la résistance aux β -lactamines était principalement par production de carbapénémases.

Plusieurs carbapénémases appartenant aux différentes classes d'Ambler ont pu être identifiées chez *Acinetobacter baumannii*.

La première MBL identifiée chez *A. baumannii* était IPM-2 signalée en 2000 en Italie. Depuis lors, IMP, VIM et SIM ont été rapportés sporadiquement dans certaines parties du monde. À ce jour, quatre groupes de MBL ont été identifiés chez *A. baumannii* : IMP, VIM, SIM, et récemment les NDM. ([N. Djahmi et al, 2014](#)). En Algérie, l'enzyme NDM prédomine chez *A. baumannii*. ([K. Zenati et al, 2015](#) ; [N. Mathlouthi et al, 2016](#)). Une étude de [K. Zenati et al](#) réalisés dans deux hôpitaux universitaires Algériens (Bejaia et Sétif) a mis en évidence une résistance par production de MBL de type NDM de 47.54% (29 /61 souches).

06/09 des carbapénémases détectées se sont révélées des MBLs. Un nombre remarquable qui montre une importante implication de ces enzymes dans la résistance aux carbapénèmes au niveau de l'unité de réanimation du CHU de Blida, ceci rejoint les résultats trouvés à l'hôpital universitaire de Tabriz en Iran où 100 souches d'*A. baumannii* ont été testées au cours d'une période de 16 mois (de mars 2008 à juin 2009). 63 souches se sont révélées résistantes aux carbapénèmes (imipénème et méropénème) parmi elles 31 (49%) étaient productrices de MBL. ([A. Peymani et al, 2011](#))

La diffusion mondiale d'*A. baumannii* producteur d'OXA-23 est maintenant bien établie et a notamment été observée dans les hôpitaux Algériens au cours des dernières années. ([Brahmi S et al, 2016](#)). [M. Touati et al](#) ont rapporté en 2012 que 91.66% (22 des 24) des souches *A. baumannii* résistant à l'imipénème isolées à l'hôpital universitaire d'Annaba produisaient l'OXA-23. Une autre étude dans trois hôpitaux situés dans le nord-ouest de l'Algérie (Tlemcen, Oran et Sidi Bel Abbès) a rapporté un pourcentage de 50% (40/80) de production d'OXA-23 et 21,2% (17/80) de production d'OXA-24. ([E. Mesli et al, 2013](#))

Dans la présente étude, 3/9 souches ont donné un test d'inactivation de carbapénème (Carbapenem inactivation method) positif révélant une résistance par production d'autres enzymes mis à part les MBL. Il est fort probable que ces enzymes soient des OXA-23 ou OXA-48 que le test de Carbapenem Inactivation Method a l'avantage de détecter. ([Van der Zwaluw K et al, 2015](#)) Seule une étude génotypique pourra distinguer la variante de la carbapénémase impliquée parmi les carbapénémases détectées.

La Carbapenem Inactivation Method est un test qui a prouvé une spécificité et une sensibilité comparable à celles de Carba NP test et à la PCR dans la détection d'un large spectre de carbapénémases. ([Van der Zwaluw K et al, 2015](#) ; [E. Aktaş et al, 2016](#)). Dans la présente étude, ce test a permis la révélation d'une production d'une carbapénémase chez 2 souches pour lesquels le test de Hodge a été négatif.

Des mécanismes non enzymatiques tels que la modification des porines, l'altération de l'affinité membranaire et l'efflux actif, sont responsables de la résistance aux bêtalactamines chez *Acinetobacter baumannii*. Les méthodes phénotypiques appliquées ne peuvent pas

détecter ces mécanismes d'où la nécessité d'avoir recours à des méthodes génotypiques pour leur mise en évidence.

Devant une épidémiologie marquée par l'augmentation des prévalences des souches multi, ultra et totorésistantes dans le monde entier limitant ainsi les choix thérapeutiques pour les patients souffrant d'une infection à *Acinetobacter spp* et dont le déterminant clé de survie est l'initiation précoce d'une antibiothérapie appropriée. (Wong D et al, 2017), un des objectifs du présent travail était la catégorisation des souches *A. baumannii* étudiées selon l'étendue de la résistance.

Les résultats de la présente étude montrent que 14/15 des souches étudiées sont des souches dites ultrarésistantes ou totorésistantes et qu'une seule souche multirésistante a été isolée. Ces résultats sont en parfaite concordance avec les résultats d'une étude menée dans de 2 hôpitaux universitaires (hôpital Charles Nicolle de Tunis et hôpital universitaire d'Annaba) sur 37 souches d'*A. baumannii* issues des malades admis dans des unités de soins intensifs qui montrent que toutes les souches étaient des ultrarésistantes. (S. Amiri et al, 2017).

Une étude menée par J. Nowak et al en 2017 a rapporté que sur 65 souches d'*A. baumannii* isolées chez des patients souffrant d'une pneumopathie sous ventilation assistée dans le sud de l'Europe (Grèce, Italie et Espagne), 32% étaient MDR, 34% étaient XDR et 31% étaient PDR.

La distinction entre les souches ultra et totorésistantes n'a pas été possible par défaut de réalisation de l'étude de sensibilité à la colistine et à la tigécycline.

Aucune méthode n'est actuellement validée pour l'étude de la sensibilité à la tigécycline chez *Acinetobacter baumannii* et ni EUCAST ni CLSI fournissent de breakpoints pour cette molécule. (R. Gauzit et A. Friggeri, 2017)

Quant à la colistine, l'étude de la sensibilité à cet antibiotique dans les conditions standards d'antibiogramme est source d'un taux élevé de fausse sensibilité. Les résultats sensibles doivent donc être confirmés par des tests de dilution. Néanmoins, les souches résistantes peuvent toujours être détectées par cette méthode de routine. (Poirel et al, 2017)

Selon les recommandations d'EUCAST-CLSI Working Group (2016), la seule technique recommandée pour l'étude de la résistance à la colistine chez *Acinetobacter spp* est la détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide. (Annexe 10)

Il est important de relever que l'étude de la sensibilité à la colistine par la méthode recommandée est indispensable devant les données épidémiologiques signalant des taux globaux de résistance à cet antibiotique qui augmentent considérablement à partir de 2011, chez les souches résistantes aux carbapénèmes pour lesquelles la colistine est considérée comme le traitement du dernier recours. (Ahmed SS et al, 2016).

En Algérie, la première souche *Acinetobacter baumannii* résistante à la colistine a été isolée au niveau du CHU Beni-Messous à Alger en 2014 à partir des sécrétions bronchiques d'un malade de 46 ans hospitalisé en réanimation et n'ayant jamais reçu de la colistine. (Sofiane Bakour, 2015).

Recommandations

5 Recommandations :

5.1 Recommandations sur les précautions à prendre pour éviter la contamination des hémocultures :

Devant le taux non négligeable des hémocultures contaminées, source de difficultés d'interprétation de l'étude bactériologique et d'intervention thérapeutique inappropriée, il paraît important de rappeler des recommandations assurant la bonne réalisation de ces prélèvements.

La contamination des hémocultures se fait principalement par :

- Les mains du préleveur et la peau du patient mal désinfectées,
- L'environnement hospitalier contaminé,
- Les bouchons des flacons d'hémocultures mal décontaminés. (H. Kallel et al, 2006)

5.1.1 Avant le prélèvement :

- La fermeture de la porte de la chambre du patient pour minimiser la contamination par des germes de l'environnement ; (A. Nejla, 2015)
- La décontamination du plan de travail ; (A. CHABAUD, 2016)
- Le port de gants est indispensable mais, au préalable, le préleveur doit impérativement se laver les mains avec une solution hydroalcoolique ; (F. Denis et al, 2016)
- Le port d'un masque de type chirurgical ; (Remic, 2015)
- La désinfection de l'opercule des flacons par la Bétadine alcoolique 5% en laissant la compresse de désinfection sur le flacon jusqu'au moment de prélèvement ; (A. CHABAUD, 2016)
- L'asepsie de la peau du patient au point de la ponction doit se faire en cinq temps :
 - Détertion avec le savon doux stérile ;
 - Rinçage à l'eau stérile ;
 - Séchage avec des compresses stériles ;
 - Application d'un antiseptique majeur alcoolique (Povidone iodée (PVPI) ou chlorhexidine) ;
 - Séchage spontané.

Cette asepsie cutanée doit être large en évitant de repasser sur la zone déjà traitée. Elle se fait soit de haut en bas soit en escargot. (A.Nejla , 2015 ; F. Denis et al, 2016)

5.1.2 Au moment du prélèvement :

- Les prélèvements via un dispositif intra-veineux (DIV) doivent être bannis car ils augmentent la fréquence des contaminants (exception lors de diagnostic d'une infection liée à un DIV) ; (H. Kallel et al, 2006)
- Pour chaque prélèvement, deux flacons sontensemencés, un flacon aérobique et un flacon anaérobique ; (S. Dargère et al, 2014)
- Le flacon aérobique est préférentiellementensemencé en premier permettant ainsi d'évacuer l'air présent dans la tubulure avant d'inoculer le flacon anaérobique ; (Denis et al, 2016)
- Un prélèvement en une seule ponction veineuse de 4 à 6 flacons (2 à 3 flacons aérobies et 2 à 3 flacons anaérobies) est une nouvelle approche qui présente plusieurs avantages :
 - Interprétation plus aisée des résultats car la contamination ne touche généralement que le 1^{er} flacon.
 - Assurance de confort du patient (une seule ponction veineuse)
 - Instauration plus précoce de l'antibiothérapie.

- Diminution de la charge de travail et le gain du temps pour le préleveur (temps réinvesti en partie pour les bonnes pratiques du prélèvement)
- Diminution du risque, non négligeable, d'accident d'exposition au sang (AES) pour le préleveur. (S. Dargère et al, 2014 ; Arendrup M et al, 1996).

Cette approche est non indiquée pour les nourrissons et les patients souffrant d'endocardite infectieuse (niveaux de preuves insuffisants). (S. Dargère et al, 2014 ; Arendrup M et al, 1996 ; Remic, 2015)

5.1.3 Après le prélèvement :

Les flacons d'hémocultures doivent être acheminés au laboratoire dès que possible. L'acheminement est réalisé à température ambiante. (Remic, 2015)

5.2 Recommandations sur la réalisation des prélèvements distaux protégés :

Le prélèvement distal protégé est un acte infirmier, visant à identifier l'origine bactériologique d'une infection pulmonaire, en particulier la pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM).

Le soin est réalisé selon le protocole suivant :

- Le PDP est effectué par l'aide-soignant, sur prescription médicale, au lit du patient. Une aide est recommandée mais pas obligatoire si l'asepsie est respectée.
- Aspirer le patient avant l'examen.
- Déposer sur le champ stérile : les seringues de 2ml et 10ml, la pompeuse, les compresses stériles et le kit PDP.
- Le PDP est inséré via la sonde d'intubation ou la canule de trachéotomie jusqu'à sensation d'une butée (à l'aveugle), puis le retirer de quelques centimètres (2-3cm),
- Expulser le bouchon de polyéthylène glycol et avancer le cathéter interne de 2-3cm,
- Aspirer 3 fois, à l'aide d'une seringue de 10 ml connectée au cathéter interne,
- Rétracter le cathéter interne dans la gaine protectrice sur 2-3cm, permettant ainsi d'éviter toute contamination.
- Lors du retrait de l'ensemble du dispositif hors des voies aériennes, l'extrémité distale du cathéter externe est essuyée avec une compresse stérile puis sectionner stérilement, à distance du cathéter interne,
- Avancer le cathéter interne et le purger avec 1ml du sérum physiologique dans un récipient stérile,
- Couper, avec la deuxième paire de ciseaux stériles, le segment distal du cathéter interne ($\pm$ 4cm) et le déposer dans le même récipient contenant la suspension de 1ml. (N. Basset, É. Chauffray , 2017)
- Acheminer au laboratoire, au maximum dans les 2h suivant le prélèvement. (C. MOTAIS et C. FAHEY, 2014 ; K. Pace et Jean-Claude Merle, 2016.)

5.3 Recommandations sur l'utilisation clinique de la colistine :

Face au taux élevé des souches *A. baumannii* classées XDR/PDR provenant de l'unité de réanimation, il est approprié de rappeler des recommandations d'utilisation de la colistine, traitement de dernier recours.

- La colistine est un ATB polypeptidique de la famille des polymyxines, à action bactéricide dose dépendante et à index thérapeutique étroit.
- Elle est disponible sous deux formes pharmaceutiques : La **colistine sulfate** (forme active de l'ATB) et la **colistiméthate sodique** (une prodrogue qui s'hydrolyse spontanément à température ambiante et en milieu aqueux comme le sang et les liquides biologiques, en dérivés sulfonéthylés et colistine active en quantités variables et imprévisibles.). C'est cette forme qui est la plus utilisée en réanimation. (D. Yahav et al, 2011)
- La colistine est un antibiotique à n'utiliser qu'en cas de nécessité absolue, après résultats bactériologiques documentés et en l'absence d'alternative thérapeutique.
- Différentes conventions sont utilisées pour étiqueter les boîtes des spécialités pharmaceutiques disponibles sur le marché et en spécifier les doses. Elles sont à prendre en considération avant l'administration de la molécule pour éviter toute confusion.
A préciser que :
1 000 000 UI de colisthémate = 80mg de colisthémate = 33.3 mg de colistine active.
- La colistine est administrée à raison de 50 000 à 150 000 UI/kg par jour en 3 injections en perfusion lente pendant 1 heure. La durée de traitement ne doit pas dépasser 10 jours. (OMÉDIT, 2013)
- Une surveillance des concentrations plasmatiques est indispensable pour l'optimisation du traitement. Une concentration plasmatique de colistine de 2 mg / l est une valeur cible raisonnable pour les isolats avec des CMI de 1 mg/l.
- Une administration au site d'infection par voie pulmonaire, intrathécale ou intraventriculaire génèrent des concentrations nettement plus élevées que celles atteintes par voie veineuse et est responsable d'une meilleure efficacité et épargnent des reins. (Cornelia B. Landersdorfer, Roger L. Nation, 2015)
- La néphrotoxicité liée à l'administration de la colistine est l'effet indésirable majeur à craindre. Elle est dose dépendante, réversible dans les 4 à 6 semaines qui suivent l'arrêt du traitement et favorisée par plusieurs facteurs dont une atteinte rénale préexistante, une posologie cumulative, et l'administration des autres médicaments néphrotoxiques. (E. Kipnis et B P Guery, 2010)
- La fonction rénale du malade candidat de recevoir cet ATB doit être évaluée et les posologies sont à ajuster en fonction de la créatinémie.
- En cas d'une insuffisance rénale non dialysée, il convient de réduire et espacer les doses de réinjection (75 000UI/KG toutes les 48h). (Marwan Bouras et al, 2017)
- L'association de la colistine à d'autres ATB permet la prévention de l'émergence des résistances à cette molécule. Elle est à envisager quand la CMI de la souche en cause est >1mg/l. (C.B. Landersdorfer et R. L. Nation, 2015)
- Plusieurs associations à base de colistine ont prouvé leur efficacité dans le traitement des infections à *A. baumannii* XDR. (Consulter chapitre Approches thérapeutiques)

5.4 Recommandations destinées au laboratoire de microbiologie :

La catégorisation des souches *A. baumannii* en souches MDR, XDR et PDR est primordiale pour le choix d'un schéma thérapeutique approprié. Il est alors à recommander au laboratoire de microbiologie de :

- Définir clairement les notions de multirésistance, ultrarésistance et totorésistance chez *A. baumannii* et les communiquer aux services hospitaliers notamment à l'unité de réanimation.
- Ajouter une remarque en rouge sur le type de la souche isolée (MDR, XDR ou PDR) sur la fiche des résultats et la fiche de résultats de l'antibiogramme à remettre au clinicien.
- Etudier la sensibilité pour des nouvelles molécules antibiotiques ayant prouvé une efficacité contre les souches *A. baumannii* ultrarésistantes (comme le sulbactam et la colistine) pour faciliter la décision au clinicien et optimiser les choix thérapeutiques.
- Adopter la technique recommandée (détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide) pour l'étude de la sensibilité à la colistine, étape primordiale dans la catégorisation des souches en souches XDR ou PDR.

Conclusion

Conclusion

Acinetobacter baumannii multirésistant constitue un problème majeur de santé publique. Plusieurs mécanismes sont à la base de cette multirésistance aux antibiotiques. L'inactivation enzymatique reste cependant le mécanisme prépondérant et en particulier la production de bêtalactamases.

La présente étude a montré la place importante qu'occupe l'infection à *A. baumannii* au niveau de l'unité de réanimation polyvalente du CHU de Blida-Unité FRANTZ Fanon et les niveaux très élevés de résistance aux antibiotiques touchant principalement les familles des β -lactamines, fluoroquinolones et des aminosides. Elle a également mis l'accent, grâce aux tests phénotypiques appliqués, sur les taux importants de synthèse des bêtalactamases notamment des carbapénémases de la classe B d'Ambler ainsi que l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle.

Devant cette situation alarmante qui limite fortement l'arsenal thérapeutique et accroît le risque d'impasse en matière du traitement, il est impératif de rationaliser l'utilisation des antibiotiques et d'améliorer les mesures d'hygiène.

Références

Bibliographie

A

A. CHABAUD. Bonnes pratiques de prélèvement des hémocultures. Version 1: (01/07/2016) p. 1/5.

Alejandra Gallardo-Godoy, Craig Muldoon, Bernd Becker, Alysha G. Elliott, Lawrence H. Lash, Johnny X. Huang, Mark S. Butler, Ruby Pelingon, Angela M. Kavanagh, Soumya Ramu, Wanida Phetsang, Mark A. T. Blaskovich, and Matthew A. Cooper. (2016). Activity and Predicted Nephrotoxicity of Synthetic Antibiotics Based on Polymyxin B, *J. Med. Chem.* (2016), 59, 1068–1077.

Ana Maria Gonzalez-Villoria and Veronica Valverde-Garduno. 2016. Antibiotic-Resistant *Acinetobacter baumannii* Increasing Success Remains a Challenge as a Nosocomial Pathogen. Hindawi Publishing Corporation Journal of Pathogens Volume (2016), Article ID 7318075, 10 pages.

ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the United States, (2013). US department of health and human services. Centers for disease control and prevention.

Anton Y. Peleg, Harald Seifert, David L. Paterson .2008. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, July (2008), p. 538–582.

A. Pourbaix et F. Guérin. Fosfomycine, place et intérêt dans un contexte de multirésistance. Journal des Anti-infectieux (2016) 18, 85-97.

Ahlem Trifi, Sami Abdellatif, Mouna Oueslati, Meriem Zribi, Foued Daly, Rochdi Nasri, Rahma Mannai, Chadlia Fandri, Salah Ben Lakhal. Infections nosocomiales : état des lieux dans un service de réanimation. La Tunisie Medicale – (2017); Vol 95 (n°03): 179-184.

Ahmed SS, Alp E, Hopman J, Voss. A Global Epidemiology on Colistin Resistant *Acinetobacter baumannii*. (2016) J Infect Dis Ther4: 287.

Alessandra Oliva, Alessia Cipolla, Vincenzo Vullo, Mario Venditti, Claudio Maria Mastroianni, Marco Falcone Clinical and in vitro efficacy of colistin plus vancomycin and rifampin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* causing ventilator-associated pneumonia. New Microbiol. (2017) Jul;40(3):205-207. Epub 2017 Jul 4.

Amir Peymani et al. High Prevalence of Metallo-Beta-Lactamase Producing *Acinetobacter baumannii* in a Teaching Hospital in Tabriz, Iran.Jpn. (2011). J. Infect. Dis., 64 (1), 69-71.

Ankur Goyal, Neha K Mani, Renu Chahar, Ankita Soni and Sapna Goyal. Comparison of Various Phenotypic Methods in Detection of Carbapenemases and Metallo-Beta-Lactamases in Carbapenem Resistant Clinical Isolates of *Acinetobacter* Species at a Tertiary Care Centre in North India. ISSN: 2319-7706 Volume 7 Number 01. Int.J. Curr.Microbiol. App.Sci(2018) 7(1): 3023-3030.

Arendrup M, et al. Diagnosing bacteremia at a Danish hospital using one early large blood volume for culture. Scand J Infect Dis.(1996);28(6):609-14.

Aparna Shivaprasad, Beena Antony, Poornima Shenoy. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Metallo- β -Lactamase and Carbapenemase Production in *Acinetobacter baumannii*. J Clin Diagn Res. (2014) May; 8(5): DC05– DC08. Published online (2014) May 15.

Aristine Cheng et al. Excess Mortality Associated with Colistin- Tigecycline Compared with Colistin-Carbapenem Combination Therapy for Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Bacteremia: A Multicenter Prospective Observational Study. Society of Critical Care Medicine and Wolters Kluwer Health, Inc. Crit Care Med. (2015) Jun;43(6):1194-204.

Assiya El Kettani et al. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* bacteremia in intensive care units of IbnRochd University Hospital, Casablanca. Volume 9 Number 6 (December 2017) 318-323.

Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. Bactériologie clinique 2ème édition.

B

Beijerinck M. Pigmenten als oxydatie producten gevormd door bacteriën. Versl. Koninklijke Akad. (1911). Wetensch. 19:1092-1103.

Bergogne-B, Erézin E, Friedman H, Bendinelli M. *Acinetobacter* Biology and Pathogenesis., editors. New York, NY: Springer US; (2008); 1-18 p.

BOUALI Asma. Etude de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii* au niveau de CHU de Batna. 19e Journées Nationales de Microbiologie .(9 - 10 décembre 2013).

Boukhalfa S. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic bactériologique et l'étude des mécanismes de résistance d'*Acinetobacter baumannii* isolé au CHU de Batna. Université de Batna El hadj lakhdar; (2014).

Brahmi S, Touati A, Cadière A, Djahmi N, Pantel A, Sotto A, Lavigne J-P, Duniach-Remy C. First description of two sequence type 2 *Acinetobacter baumannii* isolates carrying OXA-23 carbapenemase in *Pagellus acarne* fished from the Mediterranean Sea near Bejaia, Algeria. Antimicrob. Agents Chemother. April (2016) vol. 60 no. 4 2513-2515.

Brossard KA, Campagnari AA. The *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. Infect Immun. (2012);80[1]:228–33.

C

Carlos Hernan Rodriguez, Marcela Nastro, Carlos Vay and Angela Famiglietti In vitro activity of minocycline alone or in combination in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. J Med Microbiol. (2015) Oct;64(10):1196-200.

Céline MOTAIS et Céline FAHEY. PRELEVEMENT DISTAL PROTEGE. 05/01/2014

D

Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, Lambert T, Courvalin P . AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial agents and chemotherapy, Feb. 2008, p. 557–562

David livermore, health protection agency .colindal ,London .(2015).

De Breij A, Haisma EM, Rietveld M, El Ghalbzouri A, van den Broek PJ, Dijkshoorn L, et al. Three-dimensional human skin equivalent as a tool to study *Acinetobacter baumannii* colonization. Antimicrob Agents Chemother. (2012);56[5]:2459–64.

Decker BK, Powers JH. Using the rate of bacterial clearance determined by real-time polymerase chain reaction to evaluate antibiotic effectiveness in *Acinetobacter baumannii* bacteremia.Crit Care Med. (2013);41[5]:e 47.

Dheepa Muthusamy, S. Sudhishnaa, Appalaraju Boppe. In vitro Activities of Polymyxins and Rifampicin against Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* at a Tertiary Care Hospital from South India.Journal of Clinical and Diagnostic Research. (2016) Sep, Vol-10(9): DC15-DC18.

Doi, Y, J. M. Adams, K. Yamane, and D. L. Paterson. Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. (2007). Antimicrob. Agents Chemother. 51:4209–4210.

Dominique Decré . *Acinetobacter baumannii* et résistances aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. Revue francophone des laboratoires (2012).

Donggun Yong, Kyungwon Lee. In vitro antimicrobial synergy of colistin with rifampicin and carbapenems against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates.Diagnostic Microbiology and Infectious Disease (2016).

Dortet L, Legrand P, Soussy CJ, Cattoir V. Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, two frequently misidentified opportunistic pathogens. J Clin Microbiol. 2006 Dec;44(12):4471-8

Drissi M, Poirel L, Mugnier PD, Baba Ahmed Z, Nordmann P. Carbapenemase producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2010);29:1457–8.

Duck Jin Hong et al.In vitro antimicrobial synergy of colistin with rifampicin and carbapenems against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates.Diagnostic Microbiology and Infectious Disease Diagn Microbiol Infect Dis. (2016) Oct;86(2):184-9.

E

E. F. Lessel. International Committee on Nomenclature of Bacteria Subcommittee on the Taxonomy of Moraxella and Allied Bacteria. Int J Syst Evol Microbiol. (1971);21:213–4.

EL GHAZOUANI Ghizlane . Les infections à germes multirésistants en réanimation. THESE N° 37. Faculté de Médecine Marrakech (2010).

Elhani D. Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. Ann Biol Clin 2012 ; 70(2) : 117-40.

Elif Aktaş et al. Evaluation of the Carbapenem Inactivation Method for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria in Comparison with the RAPIDEC CARBA NP. MICROBIAL DRUG RESISTANCE. (2016).

Emanuele Durante-Mangoni et al. Colistin and Rifampicin Compared With Colistin Alone for the Treatment of Serious Infections Due to Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Clin Infect Dis. (2013) Aug;57(3):349-58.

Esma Mesli, Meryem Berrazeg ,Mourad Drissi ,Souad Naïma Bekkhoucha ,Jean-Marc Rolain. Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo-β-lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. Volume 17, Issue 9, September (2013), Pages e739-e743.

E kipnis, B P Guery (2010) Réévaluation de la colistine . Antibiotiques (2010) 12 205-227. Elsevier Masson.

Euzebu JP. *Acinetobacter* Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Décembre (2003)

Evans HL, Dellit TH, Chan J, Nathens AB, Maier R V, Cuschieri J. Effect of chlorhexidine whole-body bathing on hospital-acquired infections among trauma patients. Arch Surg. (2010);145[3]:240–6.

F

Fan B, Guan J, Wang X, Cong Y Activity of Colistin in Combination with Meropenem, Tigecycline, Fosfomycin, Fusidic Acid, Rifampin or Sulbactam against Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Murine Thigh-Infection Model.(2016) PLoS ONE 11(6): e 0157757.

Fechkeur Y, Thibault M. *Acinetobacter* : aspect bactériologique, habitat, pouvoir pathogène et sensibilité aux antibiotiques. Feuilles de Biologie. (1998). vol. XXXIX. N° 222 : 39-45.

Fournier PE, Vallenet D, Barbe V et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. PLoS Genetics 2006; 2: E7.

François Denis, Marie-Cécile Ploy, Christian Martin, Vincent Cattoir. Bactériologie médicale Techniques usuelles 3ème édition.(2016)

Fu Q, Ye H, Liu S. Risk factors for extensive drug-resistance and mortality in geriatric inpatients with bacteremia caused by *Acinetobacter baumannii*. Am J Infect Control. (2015);43[8]:857–60.

G

Gauzit, R. et Friggeri, Quelle place pour la tigécycline aujourd'hui ? A. Méd. Intensive Réa (2017) 26: 233.

German GJ, Gilmour M, Tipples G, Adam HJ, Almohri H, Bullard J, Dingle T, Farrell D, Girouard G, Haldane D, Hoang L, Levett PN, Melano R, Minion J, Needle R, Patel SN, Rennie R, Reyes RC, Longtin J, Mulvey MR. Énoncé canadien définissant la multi-résistance et l'ultra-résistance chez les souches d'entérobactéries, d'*Acinetobacter* spp. et de *Pseudomonas aeruginosa* pour les laboratoires médicaux. Relevé des maladies transmissibles au Canada. (2018);44(1):32-7.

Gillespie S. H. et Hawkey P.M.. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Edition wiley. 2eme Edition. (2006) London. 604P.

GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF NEW ANTIBIOTICS. OMS,(2017).

Gniadek TJ, Carroll KC, Simner PJ. Carbapenem-resistant nonglucose-fermenting Gram-negative bacilli: the missing piece to the puzzle. (2016). J Clin Microbiol 54:1700–1710.

Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. Int J Antimicrob Agents. (2010);35[3]:219–26.

Guillou J et al. *Acinetobacter* et infections nosocomiales. Presse Med (2002) ; 31 : 651-6.

Gustavo M. Cerqueira and Anton Y. Peleg. Insights into *Acinetobacter baumannii* Pathogenicity (2011). IUBMB Life, 63(12): 1055–1060, 2011.

Guoqing Wan, Lingao Ruan, Yu Yin, Tian Yang, Mei Ge, Xiaodong Cheng. Effects of silver nanoparticles in combination with antibiotics on the resistant bacteria *Acinetobacter baumannii*. Int J Nanomedicine. 2016; 11: 3789–3800. Published online (2016) Aug 12.

H

H. Giamarellou, et al. A universal threat to public health? .International Journal of Antimicrobial Agents. (2008);32:106-19.

H. Hans. Infections nosocomiales, épidémiologie et résistance aux antibiotiques. La Chaux-de-Fonds. (2000);7:1-3.

H. Kallel et al. Contamination of blood cultures drawn from central vein catheter and peripheral venipuncture. Prospective study of 75 pairs. Pathologie Biologie 54 (2006) 44–48.

Haifei Yanga, Guosheng Chena, Lifen Hua, Yanyan Liub, Jun Chenga, Hongru Li, Ying Yea, Jiabin Li. In vivo activity of daptomycin/colistin combination therapy in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. Int J Antimicrob Agents. (2015) Feb;45(2):188-91.

Hakemi Vala .M, Hallajzadeh. M, Hashemi. A, Goudarzi .H, Tarhani M, Sattarzadeh Tabrizi M, Bazmi F. Detection of Ambler class A, B and D β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from burn patients . Annals of Burns and Fire Disasters - vol. XXVII - n. 1 - March (2014).

He S et al. In vitro and in vivo analysis of antimicrobial agents alone and in combination against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. 2015. Front Microbiol. (2015); 6: 507.

Higgins, P. G., H. Wisplinghoff, D. Stefanik, and H. Seifert. Selection of topoisomerase mutations and overexpression of adeB mRNA transcripts during an outbreak of *Acinetobacter baumannii*. J. Antimicrob. Chemother. 2004;54:821–823

Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. Virulence. Taylor and Francis; (2012);3[3]:243–50.

I

Ilias Karaikos, Maria Souli, Irene Galani & Helen Giamarellou .Colistin: still a lifesaver for the 21st century?. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. 2017 Jan;13(1):59-71. Epub 2016 Sep 14.

J

J. Alexander Viehman, Minh-Hong Nguyen^{1,2,3}, and Yohei Doi. Treatment Options for Carbapenem-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. Drugs. (2014) Aug; 74(12): 1315–1333.

J. Nowak , Zander E, Stefanik D, Higgins PG, Roca I, Vila J .High incidence of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected from patients with ventilator-associated pneumonia in Greece, Italy and Spain as part of the MagicBullet clinical trial. J Antimicrob Chemother. 2017 Dec 1;72(12):3277-3282.

J. Poissy, E. Parmentier-Decrucq, C. Thieffry, T. Duburcq , D. Mathieu. « Nouvelles » molécules anti-infectieuses : Quelle place en médecine intensive/réanimation pour ceftolozane–tazobactam et la témocilline ? Méd. Intensive Réa (2017) 26: 224.

J. P. Lavigne , C. Pfeiffer, L. Vidala, A. Sottoac. Rapid detection of multidrug resistant Gram-negative bacilli by Cica-Beta-Test strips. Pathologie Biologie Volume 59, Issue 1, February (2011), Pages e7–e11.

J. Vila & J. Pachon. Therapeutic options for *Acinetobacter baumannii* infections: an update. Expert Opin Pharmacother. (2012) Nov;13(16):2319-36.

Jaidane N, Naas T, Mansour W, Radhia BB, Jerbi S, Boujaafar N, Bouallegue O, Bonnin RA. (2018). Genomic analysis of in vivo acquired resistance to colistin and rifampicin in *Acinetobacter baumannii*. International Journal of Antimicrobiol Agents. 2018 Feb;51(2):266-269.

Janet A. Hindler, Romney M. Humphries (2012) Colistin MIC Variability by Method for Contemporary Clinical Isolates of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. Journal of Clinical Microbiology p. 1678–1684 June 2013 Volume 51 Number 6.

Jasna Hrenović. Natural habitat of clinically important *Acinetobacter baumannii*. (2015)

Joly-Guillou M-L, M. Kempf. *Acinetobacter* : épidémiologie et diagnostic microbiologique – Clinical Key. Biol Med (Paris). (2013);8[4]:1–8.

Jordi Vila, Sara Martí ´ and Javier Sa ´nchez-Ce ´spedes. 2007. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2007) 59, 1210–1215.

Jose Garnacho Montero et al. Optimum treatment strategies for carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia Expert Rev. Anti Infect. Pages 769-777 | Published online: 12 Apr (2015).

J. Nowak , Zander E, Stefanik D, Higgins PG, Roca I, Vila J .High incidence of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected from patients with ventilator-associated pneumonia in Greece, Italy and Spain as part of the MagicBullet clinical trial. J Antimicrob Chemother. 2017 Dec 1;72(12):3277-3282.

K

Kalin G , Alp E, Akin A, Coskun R, Doganay M. Comparison of colistin and colistin/sulbactam for the treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. Infection. 2014 Feb;42(1):37-42.

Katia Pace, Jean-Claude Merle. PRÉLÈVEMENT DISTAL PROTÉGÉ (PDP) Fiche technique Formation PDP (22/03/2016)

Katy Jeannot, Arnaud Bolard, Patrick Plésiat, Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms, International Journal of Antimicrobial Agents (2017).

Kwan Soo Ko. (2017). Old drug, new findings: colistin resistance and dependence of *Acinetobacter baumannii* . Precision and Future Medicine (2017);1(4):159-167

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

K.J. Towner. Therapeutic options for infections caused by *Acinetobacter baumannii*. Antibiotiques Volume 11, n° 3 pages 150 157 (septembre 2009).

L

L. Dorteta, R. Bonnin, A. Jousset, L. Gauthier, T. Naas. Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance Journal des Anti-infectieux .Volume 18, Issue 4, December (2016), Pages 139-159.

L. Poirel, L. Dortet, P. Nordmann. Diagnostic des carbapénémases : détection et caractérisation. La Lettre de l'Infectiologue • Tome XXVIII - no 4 - juillet-août (2013).

Laurence Damier-Piolle, Sophie Magnet, Sylvie Bre'mont , Thierry Lambert, and Patrice Courvalin . AdeIJK, a Resistance-Nodulation-Cell Division Pump Effluxing Multiple Antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Feb. 2008, p. 557–562.

Laurent Dortet, Laurent Poirer, Caroline Errera, Patrice Nordmanna. CarbAcineto NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing *Acinetobacter* spp. July (2014) Volume 52 Number 7 Journal of Clinical Microbiology p. 2359–2364.

Lee C-R, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, Cha C-J, Jeong BC and Lee SH (2017) Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. Front. Cell. Infect. Microbiol. 7:55.

Lemaoui C-E, et al. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. Journal des Anti-infectieux Vol 19 - N° 1.P. 12-19 - mars (2017).

Liverana Lauretti, Quintino Giorgio D'Alessandris, Massimo Fantoni, TizianaD'Inzeo, Eduardo Fernandez, Roberto Pallini, and Giancarlo Scoppettuolo.First reported case of intraventricular tigecycline for meningitis from extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Neurosurg. (2017) Aug;127(2):370-373.

Luisa C.S. Antunes¹, Paolo Visca¹ & Kevin J. Towner. *Acinetobacter baumannii* : evolution of a global pathogen. Pathogens and Disease (2014), 71, 292–301

Lynette M. Phee,Jonathan W. Betts, Binutha Bharathan, David W. Warehama. Colistin and Fusidic Acid, a Novel Potent Synergistic Combination for Treatment of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. Antimicrob Agents Chemother. (2015) Aug;59(8):4544-50.

L. Silvia Munoz-Price and Robert A. Weinstein. *Acinetobacter* Infection. The new england journal of medicine. 2008 ;358 :1271-81.

M

Magiorakos A.-P., A. Srinivasan, R. B. Carey, Y. Carmeli, M. E. Falagas, C. G. Giske, S. Harbarth, J. F. Hindler, G. Kahlmeter⁹, B. Olsson-Liljequist, D. L. Paterson¹¹, L. B. Rice, J. Stelling , M. J. Struelens¹, A. Vatopoulos, J. T. Weber and D. L. Monnet.(2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 268–281

Maria Tamayo, Rebeca Santiso, Fátima Otero, Germán Bou, José Antonio Lepe,d Michael J. McConnell, José Miguel Cisneros, Jaime Gosálvez, José Luis Fernández, (2013), Rapid Determination of Colistin Resistance in Clinical Strains of *Acinetobacter baumannii* by Use of the Micromax Assay. Journal of Clinical Microbiology p. 3675–3682 , November 2013 Volume 51 Number 11.

Marie Kempfa, Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic des infections à *Acinetobacter baumannii*. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - AVRIL 2012 N° 441 .

Matthew E. Falagas and Sofia K. Kasiakou. Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections, *REVIEWS OF ANTI-INFECTIVE AGENTS • CID* 2005;40 (1 May).

Maria Giannouli et al Molecular epidemiology and mechanisms of rifampicin resistance in *Acinetobacter baumannii* isolates from Italy. *Int J Antimicrob Agents*. (2012) Jan;39(1):58-63.

Mariana Castanheira, Rodrigo E. Mendes, and Ronald N. Jones .Update on *Acinetobacter* Species: Mechanisms of Antimicrobial Resistance and Contemporary In Vitro Activity of Minocycline and Other Treatment Options. *Clin Infect Dis*. (2014) Dec 1;59 Suppl 6:S367-73.

Marie-Laure Joly-Guillou. *Acinetobacter* : antibiogramme (2004) [90-05-0010]. Elsevier SAS.

Madeleine Irène MIRABAUD. Entérobactéries à Béta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996. Thèse N : 10303 .Genève, (2003).

Marzieh Safari , Amir Sasan Mozaffari Nejad, Abas Bahador, Rasool Jafari , Mohammad Yousef Alikhani. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of intensive care units (ICU) *Saudi Journal of Biological Sciences* (2015) 22, 424–429.

MC. Poly, CL. Martin, E. Bingen, Quentin. Bactériologie médicale technique usuelle. 3^{ème} édition 2007. Edition Elsevier Masson.

M.C. Verdier et al. Pharmacologie de la daptomycine .La Lettre du Pharmacologue • Vol. 25n°2 - avril-mai-juin (2011).

Michael Hornsey, Lynette Phee, Christopher Longshaw, David W. Wareham. In vivo efficacy of telavancin/colistin combination therapy in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. *International Journal of Antimicrobial Agents* 41 (2013) 285– 287.

M. Llorens, F. Boukara, S. Poulain, N. Robert, M.-L. Vanson, C. Tomassini, V. Citro, E. Tomassini, B. Schnitzler, G. Louis, Y. Picard, S. Gette, G. Rondelot, C. Boscher, J.-F. Poussel, J. Sellies, Y. Rio. *Acinetobacter baumannii* multirésistant en réanimation : leçons d’une fermeture annoncée. *HYGIÈNES – (2014) - Volume XXII - n° 5*.

M.L. Joly-Guillou, D. Decré .2013. *Acinetobacter baumannii* : Antibiogramme. EMC Biologie médicale. Volume 8. N°4. Decembre (2013).

M.Touati, S. M. Diene, A. Rachera, M. Dekhil, A. Djahoudi, and J. M. Rolain, “Emergence of *blaOXA-23* and *blaOXA-58* carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria,” *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 40, no. 1, pp. 89–91, (2012).

M07-A10 Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically , Approved standard – Tenth edition CLSI-(2015).

Mohammad Ahangarzadeh Rezaee et al. Prevalence of Ambler class A β -lactamases and *ampC* expression in cephalosporin-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* *Diagnostic. Microbiology and Infectious Disease* 76 (2013) 330–334.

Mohammad-Hossein MALEKI et al. Detection of Highly Ciprofloxacin Resistance *Acinetobacter Baumannii* Isolated from Patients with Burn Wound Infections in Presence and Absence of Efflux Pump Inhibitor Journal of Clinical Medicine, Volume 9 No.2 (2014).

Mona A. Wassef and Eiman Mohammed Abdul Rahman. Chromogenic Cica- β Testing for Detection of Extended-Spectrum and AmpC β -Lactamases Among Cefoxitin-Resistant Isolates. Winter (2013). Volume 44, Number 1 Lab Medicine.

N

N. Grall , A. Andremont , L. Armand-Lefèvre Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? Journal des Anti-Infectieux .Volume 13, n° 2 pages 87-102 (juin 2011).

Najla Mathlouthi, Charbel Al-Bayssari, Sofiane Bakour, Jean Marc Rolain & Chedly Chouchani. Prevalence and emergence of carbapenemases-producing Gram-negative bacteria in Mediterranean basin. Pages 43-61 | Received 01 Nov (2015), Accepted 29 Feb 2016.

Nassima Djahmi et al. Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. Biomed Res Int. (2014);2014:305784

Natacha Basset, Élisabeth Chauffray . Le prélèvement distal protégé - 11/02/17

Nathalie Tijet , Samir N.Patel et Roberto G.Melano. Detection of carbapénémase activity in Enterobacteriaceae: Comparaison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test. Research letters. J. Antimicrob Chemother , 2016.

Neelja Singhal, Manish Kumar, Pawan K. Kanaujia and Jugsharan S. Virdi: MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis Front. Microbiol., Front Microbiol. (2015) Aug 5;6:791.

Nejla AISSA. Bonnes pratiques des prélèvements « hémocultures » – Laboratoire de Bactériologie 16eme journée national d’infectiologie JNI, du 10 au 12 juin (2015).

Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden TJK, Deschaght P, Passet V, et al. 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 *Ac. Res Microbiol.* (2011);162[4]:393–404.

Nepka M, Perivolioti E, Kraniotaki E, Politi L, Tsakris A, Pournaras S.. In vitro bactericidal activity of trimethoprim-sulfamethoxazole alone and in combination with colistin against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates.(2016).Antimicrob Agents Chemother 60:6903–6906.

Nicolas Dufour, Laurent Debarbieux. La phagothérapie Une arme crédible face à l’antibiorésistance. Médecine/sciences (2017) ; 33 : 410-6.

Nordmann P, Jayol A, Poirel L. A universal culture medium for screening polymyxin-resistant Gram-negative isolates. (2016). Journal of Clinical Microbiology 54:1395–1399.

O

Ong CWM, Lye DCB, Khoo KL, Chua GSW, Yeoh SF, Leo YS, et al. Severe community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia: an emerging highly lethal infectious disease in the Asia-Pacific. *Respirology*. (2009);14[8]:1200–5.

Ouar. M.N. AntibioGramme-BLSE-β-lactamase à spectre élargi.26 nvb (2013).

P

P.Caurvalin et Roland LECREQ. AntibioGramme 3^{ème} édition, p 459-473.2012. Edition ESKA

P.Nordmann. A. Carrer Carbapenemases in enterobacteriaceae. Volume 17, Supplement 4, September (2010), Pages S154-S162.

Paul G. Higgins, Hilmar Wisplinghoff, DanutaStefanik and Harald Seifert. 2004. Selection of topoisomerase mutations and overexpression of adeBmRNA transcripts during an outbreak of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2004) 54, 821–823.

Pawel Nowak, Paulina Paluchowska *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance — role of carbapenemases. (2016). *FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA* Vol. 54, No. 2, 2016 pp. 61–74.

Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. (2017). *Clin Microbiol Rev* 30:557–596

Parte AC. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponible sur: (<http://www.bacterio.net/-allnamesac.html>) (Consulté le 20/12/2017).

Pavani Gandha. 2014. A review on multidrug - resistant *Acinetobacter baumannii* . *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* (2014) 3(2): 9-13.

Pekka Ylipalosaari. Infections in intensive care ; epidemiology and outcome. OULUN YLIOPISTO, OULU 2007.

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

Pfeifer, Y., Cullik, A., Witte, W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. (2010). *Int. J. Med. Microbiol.* 300, 371–379.

Pilet, Bourdon J. L, Toma.B, Marchal.M, balbasta. C. Bactériologie médicale et vétérinaire. Collection: Biologie appliquée. Maison Doin. Editeur, Paris. (1983), 163.

Poissy, J. et al « Nouvelles » molécules anti-infectieuses : Quelle place en médecine intensive/réanimation pour ceftolozane–tazobactam et la témocilline ? May 2017, Volume 26, Issue 3, pp 224–232

PRESCOTT, HARLEY et KLEIN. Les bactéries :protéobactéries 503-505.MICROBIOLOGIE 2ème édition française. De Boeck .(2003)

R

RABHI Fatima Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants aux antibiotiques: cas de la colistine en réanimation (2011). Thèse de Master. Université Abou BekrBelkaid –Tlemcen.

RADI Omaina Pneumopathies nosocomiales au service de réanimation au CHU HASSAN II de Fès : Profil bactériologique et antibiorésistance. Projet de fin d'étude (2017) Faculté des sciences – Département de biologie. Université Sidi Med Ben Abdellah. Maroc.

Rafael López-Rojas, Michael J. McConnell, a,c Manuel Enrique Jiménez-Mejías, a,c Juan Domínguez-Herrera, a,c Felipe Fernández-Cuenca, b,c Jerónimo Pachón, a,c .(2013). Colistin Resistance in a Clinical *Acinetobacter baumannii* Strain Appearing after Colistin Treatment : Effect on Virulence and Bacterial Fitness. September 2013 Volume 57 Number 9 Antimicrobial Agents and Chemotherapy p. 4587–4589.

Regaieg K, et al. L'efficacité de l'association tigécycline–colistine dans le traitement d'une méningite à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant. Med Mal Infect (2017).

Romney M. Humphries. Susceptibility Testing of the Polymyxins: Where Are We Now?. Pharmacotherapy. (2015) Jan;35(1):22-7.

R.Cohen. (2010). Clomycine : un vieil antibiotique qu'il faut apprendre à connaître. Archives de Pédiatrie 2010 ; 17 : S171-S176. Elsevier Masson.

R. Gauzit · A. Friggeri. Quelle place pour la tigécycline aujourd'hui ? SRLF et Lavoisier SAS 2017.

Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group .(2016).

Rémy A. Bonnin, Thierry Naas, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann .Phenotypic, Biochemical, and Molecular Techniques for Detection of Metallo β -Lactamase NDM in *Acinetobacter baumannii*.(2012). Journal of Clinical Microbiology p. 1419–1421.

Robert T. Schooley et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy October (2017) Volume 61 Issue 10 e00954-17.

Ronen Zalts, Ami Neuberger, Khetam Hussein, Ayelet Raz-Pasteur, Yuval Geffen, Tanya Mashiach and Renato Finkelstein. Treatment of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Ventilator-Associated Pneumonia: Retrospective Comparison Between Intravenous Colistin and Intravenous Ampicillin Sulbactam. American Journal of Therapeutics Am J Ther. (2016) Jan-Feb;23(1):e78-85.

Rasool, M. S, Ajaz, M, Siddiqui, F, Rasool, S. A., and Hafiz, S. in vitro activity of Fosfomycin against uropathogen multidrug resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. (2015). AFR. J. CLN. EXPER. MICROBIOL. 16(3): 119-123 vol16, No3.

Rossau R, Landschoot A van, Gillis M, and de Ley J. Taxonomy of Moraxellaceae fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera Moraxella, Acinetobacter, and Psychrobacter and related organisms. (1991) Int. J. Syst. Bacteriol. 41:310-319.

Rujipas Sirijatuphat, VisanuThamlikitkul. Preliminary Study of Colistin versus Colistin plus Fosfomycin for Treatment of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. Antimicrob Agents Chemother. (2014) Sep;58(9):5598-601.

S

S. Dargère et al .Unique blood culture for diagnosis of bloodstream infections in emergency departments: a prospective multicentre study. Clin Microbiol Infect (2014); 20: O920–O92710.1111/1469-0691.12656.

S. Farid, A. Abouelela and M. Eliwa. Doxycycline and Co-trimethoxazole: A new combination for treatment of MDR *Acinetobacter baumannii*. Does it work? International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences .ISSN: 2319-7706 Volume 5 Number 1(2016) pp. 157-164.

Saad. B. Almasaudi. Acinetobacter spp as nosocomial pathogens : Epidemiology and resistance features. (2016). Saudi Journal of Biological Sciences.

Sabrina Amiri, Samia Hammami, Kamel Amoura, Mazouz Dekhil, Ilhem Boutiba-Ben Boubaker. Characterization of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units in two teaching hospitals from Algeria and Tunisia. The Pan African Medical Journal. 2017; 28:19.

schindleri, two frequently misidentified opportunistic pathogens. (2006) J Clin Microbiol;44: 4471-8.

SeongmanBae, Min-ChulKim, Su-JinPark, HeeSueng Kim, Heungsup Sung, Mi-Na Kim, Sung-Han Kim, Sang-Oh Lee, Sang-Ho Choi, Jun HeeWoo, Yang Soo Kim, YongPil Chong In Vitro Synergistic Activity of Antimicrobial Agents in Combination against Clinical Isolates of Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii* . Antimicrobial Agents and Chemotherapy November (2016) Volume 60.

Shahriar Sepahvand , Mohammad Ali Davarpanah, Amir Roudgari , Abbas Bahador , Vajihe Karbasizade, Zahra Kargar Jahromi. Molecular evaluation of colistin-resistant gene expression changes in *Acinetobacter baumannii* with real-time polymerase chain reaction. Infection and Drug Resistance 2017;10 455–462

Skerman V, McGowan V, Sneath P. Approved Lists of Bacterial Names (Amended). ASM Press; Disponible sur: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK814/>) (Consulté le 21/12/2017).

Smani Younes, Fàbrega Anna, Roca Ignasi, Sánchez-Encinales Viviana, Vila Jordi, Jerónimo Pachón. (2014). Role of OmpA in the Multidrug Resistance Phenotype of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy p. 1806–1808 March 2014 Volume 58 Number 3.

Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, Mekalanos JJ, Ornston LN, Gerstein M, Snyder M. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes Dev* (2007); 21 (5): 601-14.

Sofiane Bakour, Abiola Olumuyiwa Olaitan, Houria Ammari, Abdelaziz Touati, SouadSaoudi, KenzaSaoudi, and Jean-Marc Rolain. Emergence of Colistin- and Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report. *Microb Drug Resist*. 2015 Jun;21(3):279-85.

Sohei Harada, M.D, Yoshikazu Ishii, M.D , and Keizo Yamaguchi, M.D. Extended-spectrum β -Lactamases: Implications for the Clinical Laboratory and Therapy. *Korean J Lab Med* (2008);28:401-12.

Sombat Lee lasupasri, Wichai Santima, Lee woragun , and Tossawan Jitwasinkul. Antimicrobial Susceptibility among Colistin, Sulbactam, and Fosfomycin and a Synergism Study of Colistin in Combination with Sulbactam or Fosfomycin against Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Pathog*. (2018) Jan 18;2018:3893492.

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale/ Tests complémentaires. Médecine humaine et vétérinaire. 7ème édition (2014)..page :39-65.

Stürenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum β -lactamases in Enterobacteriaceae strain collection. (2004). *J Antimicrobiol Chemotherapy* 54: 134-138.

Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union **EARS-Net** surveillance data November (2017). European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, 2017.

Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 17^{ème} rapport d'évaluation (de janvier au décembre 2016) Réseau Algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (**AARN**).

T

T. NAAS, P. NORDMAN.(2012). Bêtalactamines et *Acinetobacter baumannii*. AntibioGramme ,3eme Edition, p 459-473. Edition ESKA.

Thomas R. Fritsche, Mariana Castanheira, George H. Miller, Ronald N. Jones, and Eliana S. Armstrong . Detection of methyltransferases conferring high-level resistance to aminoglycosides in enterobacteriaceae from Europe, North America, and Latin America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 May;52(5):1843-5.

Timothy R. Walsh, Anne Bolmstro, Anette Qwa'mstro and Ana Gales. Evaluation of a New Etest for Detecting Metallo- β -Lactamases in Routine Clinical Testing. *J Clin Microbiol*.(2002) Aug;40(8):2755-9.

V

Vali Sepahvand, Mohammad Ali Davarpanah , Seyed Hesamedin Hejazi . (2015). Epidemiology of Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Shiraz, Iran. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*. 5(5)45-48, 2015.

Van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, Schouls LM. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram- Negative Rods. (2015) PLoS ONE 10(3): e0123690.

Vickery K, Deva A, Jacombs A, Allan J, Valente P, Gosbell IB. Presence of biofilm containing viable multiresistant organisms despite terminal cleaning on clinical surfaces in an intensive care unit. J Hosp Infect. (2012);80[1]:52–5.

Vikas Manchanda, Sinha Sanchaita, Singh NP. Multidrug Resistant Acinetobacter. Journal of Global Infectious Diseases / Sep-Dec (2010) / Vol-2 / Issue-3.

Vincent Cattoir, Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Revue francophone des laboratoires. SEP-OCT (2012) - N° 445.

W

Walia NK, Cameotra SS Lipopeptides: Biosynthesis and Applications. J Microb Biochem Technol 7:103-107. 2015

Wafi Soukaina Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats cliniques d'*Acinetobacter baumannii* .Thèse N° : 085/17.(2017)

Wentao Nia, Xiaodi Shaob, Xiuzhen Dib, Junchang Cuia, Rui Wangb, Youning Liua. In vitro synergy of polymyxins with other antibiotics for *Acinetobacter baumannii*: A systematic review and meta-analysis. Int J Antimicrob Agents. (2015) Jan;45(1):8-18.

WongD, NielsenTB, BonomoRA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. (2017) Clin Microbiol Rev 30:409–44.

X

Xiaomeng Dong, Fengzhe Chen, Yajun Zhang, Haihong Liu, Yongjuan Liu, Lixian Ma. In vitro activities of sitafloxacin tested alone and in combination with rifampin, colistin, sulbactam, and tigecycline against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Int J Clin Exp Med. (2015); 8(5): 8135–8140..PMID: 26221381.

Xie Ruiqiang, Xiaohua Douglas Zhang, Qi Zhao , Bo Peng and Jun Zheng. 2018. Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries . Emerging Microbes & Infections (2018) 7:31.

Y

Ya-Sung Yang, Yi Lee, Kuo-Chuan Tseng, Wei-Cheng Huang, Ming-Fen Chuang, Shu-Chen Kuo, Tsai-Ling Yang Lauderdale, Te-Li Chenb. In Vivo and In Vitro Efficacy of Minocycline-Based Combination Therapy for Minocycline-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. (2016) Jun 20;60(7):4047-54.

Yohei Doi, Gerald L. Murray, and Anton Y. Peleg. *Acinetobacter baumannii* : Evolution of Antimicrobial Resistance —Treatment Options. *Semin Respir Crit Care Med.* (2015) February ; 36(1): 85–98 .

Z

Z. Baba, Ahmed-Kazi Tani , G. Arlet. Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles a Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie* 62 (2014) 169–178. 2014. Elsevier Masson SAS.

Zarrilli R. *Acinetobacter baumannii* virulence determinants involved in biofilm growth and adherence to host epithelial cells. *Virulence.* 2016 May 18;7(4):367-8. doi: 10.1080/21505594.(2016).1150405.

Zhanel, G.G., Lawson, C.D., Adam, H., Schweizer, F., Zelenitsky, S., Lagace-Wiens, P.R., Denisuk, A., Rubinstein, E., Gin, A.S., et al. Ceftazidime–avibactam: a novel cephalosporin/beta-lactamase inhibitor combination. (2013). *Drugs* 73, 159–177.

Zimble DL, Penwell WF, Gaddy JA, Menke SM, Tomaras AP, Connerly PL, et al. Iron acquisition functions expressed by the human pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Biometals.* (2009);22[1]:23–32. 36.

Webographie

<http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies>

[infectieuses/2018/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte](http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2018/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte)

<https://www.vidal.fr/substances/6673/sulbactam/>

www.sante.dz/aarn

<http://www.mednet.gr/whonet/>

Annexes

Liste des annexes

Annexe 01: Technique de réalisation d'antibiogramme.

Annexe 02: Technique du test de synergie.

Annexe 03: Technique du test du double disque.

Annexe 04: Technique du test à la cloxacilline.

Annexe 05: Technique du Cica-beta-test.

Annexe 06: Technique du Cica-beta-test.

Annexe 07: Technique de Carbapenem Inactivation Method

Annexe 08: Technique de test de synergie sur double disques IMP-EDTA.

Annexe 09: Technique du test du disque combiné IMP-EDTA.

Annexe 10: Technique de microdilution pour l'étude de la sensibilité à la colistine :
Conditions et recommandations de EUCAST-CLSI 2016.

Annexe 01 : Technique d'antibiogramme. (Standardisation nationale, 2014)

Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture bactérienne pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies et décharger les dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de telle sorte que l'opacité soit de 0.5 MF (l'utilisation de densitomètre est fortement souhaitable).

Ensemencement :

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum et frotter le sur la totalité de la surface de la gélose de MH en stries serrées. Cette opération est répétée 2 fois, en tournant la boîte à 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Application des disques :

Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose (il est préférable de ne pas dépasser 6 disques d'ATB par boîte de 90 mm).

Incubation :

Incuber pendant 24h à 35°C.

Lecture :

La détermination des diamètres des zones d'inhibition se fait à l'aide d'un pied à coulisse à travers le fond de la boîte du Pétri fermée.

Interprétation :

La sensibilité de la souche est déterminée en comparant les diamètres mesurés aux diamètres critiques figurant dans les fascicules de standardisation.

Annexe 02 : Technique du test de synergie. (Elhani D, 2012 ; Standardisation nationale, 2014)

Technique :

Dans les conditions standards d'antibiogramme, déposer un disque de 30 µg de ceftazidime à une distance de 30 mm, centre à centre, d'un disque ticarcilline-acide clavulanique de 10 µg.

Le rapprochement des disques d'ATB à une distance de 15 à 20 mm offre une sensibilité supérieure, permettant la visualisation de la synergie pour certaines BLSE caractérisées par une faible activité vis-à-vis des C3G, responsable d'un bas niveau de résistance et des images de synergie plus discrètes.

Incubation :

Incuber pendant 18h à 35°C.

Lecture :

Un test positif se traduit par l'apparition d'une image de bouchon de champagne entre les disques.



Test de synergie positif (Bouchon de champagne).

Annexe 03 : Technique du test du double disque . (Standardisation Nationale, 2014 ; Ouar. M.N, 2013)

Technique :

- Dans les conditions standards d'antibiogramme, déposer un disque de TCC avec un disque de CAZ à une distance de 25mm.
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure à température ambiante (sur la paillasse), la boîte déposée le couvercle vers le haut.
- Après une heure d'incubation, ôter le disque de TCC et le remplacer par un disque de CAZ et incubé la boîte 18H à 35°C.

Lecture :

Le test est positif quand le diamètre d'inhibition autour de la CAZ, appliqué après diffusion du disque TCC, est supérieur à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de CAZ.



Test de double disque (Ouar. M.N, 2013).

Annexe 04 : Technique du test à la cloxacilline. (Standardisation nationale, 2014)

Le test s'effectue dans les conditions standards d'antibiogramme en utilisant deux milieux MH, un simple et un deuxième milieu additionné de cloxacilline.

Préparation du milieu MH additionné de cloxacilline :

- Une solution de 1mg/ml de la cloxacilline est préparée à partir de 100 mg de cloxacilline diluée dans 10 ml d'eau distillée.
- Pour une boîte de 90 mm du diamètre, 2 ml de cette solution sont mélangés à 18 ml de gélose MH.

Ensemencement : Chaque boîte de pétri est ensemencée par une suspension bactérienne à 0.5McF à l'aide d'un écouvillon. Les mêmes disques d'ATB sont déposés sur les deux boîtes.

Incubation : Pendant 18h à 35°C.

Lecture et interprétation : le test est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline à celui réalisé sur MH sans cloxacilline à la recherche d'une restitution de l'image de synergie ou une restauration des diamètres d'inhibition.

Annexe 05 : Technique du Cica-beta-test. (Mona A, 2013 ; Elhani D, 2012 ; J.-P. Lavigne, 2011)

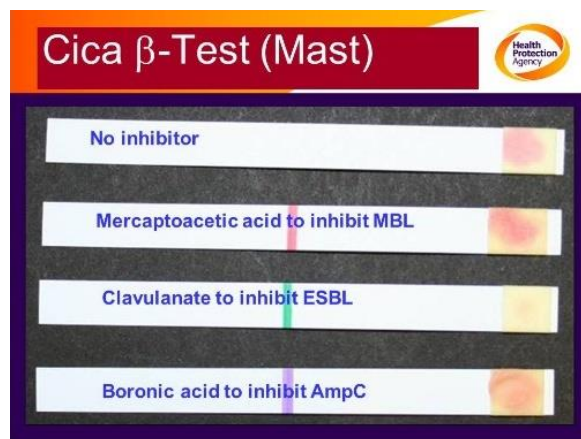
Technique :

Le Cica-béta-test utilise 4 bandelettes :

- Une bandelette ne contenant aucun inhibiteur (servant du témoin).
- Une deuxième bandelette contenant l'acide clavulanique (inhibiteur des β -lactamases) utilisé pour la détection des BLSE.
- Une troisième bandelette contenant l'acide boronique pour la détection des enzymes de type AmpC.
- Une quatrième bandelette contenant l'EDTA, un chélateur de zinc, utilisé pour la détection des métallob-lactamases.

Interprétation :

- Si la bactérie ne produit que la BLSE, l'acide clavulanique neutralise l'enzyme et la bandelette concernée reste jaune.
- Un virage au rouge de toutes les bandelettes rend la précision de la nature de multirésistance au moyen de ce test impossible.



Les bandelettes de cica-beta-test (D livermore, 2015)

Annexe 06 : Technique du test de Hodge modifié

Technique 01 (Ankur G et al, 2018) :

- Une suspension de 0,5 McF d'*E. coli* ATCC 25922 est ensemencée sur toute la surface d'une gélose MH.
- Après séchage de la gélose à la température ambiante, un disque d'imipénème (10 µg) est placé au centre de la boîte de pétri.
- La souche bactérienne à tester est ensemencée en stries partant du bord du disque d'imipénème vers la périphérie de la surface de la gélose dans quatre directions différentes.
- L'incubation du milieu se fait à 37° pendant 24h

Lecture :

La présence d'un aspect d'invagination de culture est considérée comme un test positif.



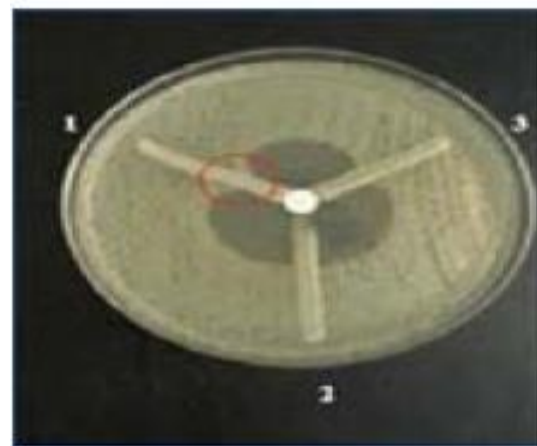
Test de Hodge modifié (Ankur G et al.2018)

Technique 02 (Bonnin et al , 2012) :

Le test se réalise dans les mêmes conditions mais en présence des témoins positif et négatif :

Témoin positif : *K. pneumoniae* BIC productrice de la carbapénémase OXA-48

Témoin négatif : la *K. pneumoniae* COO non productrice de carbapénémase mais résistante aux carbapénèmes



Test de Hodge modifié (Aparna .S et al .2014)

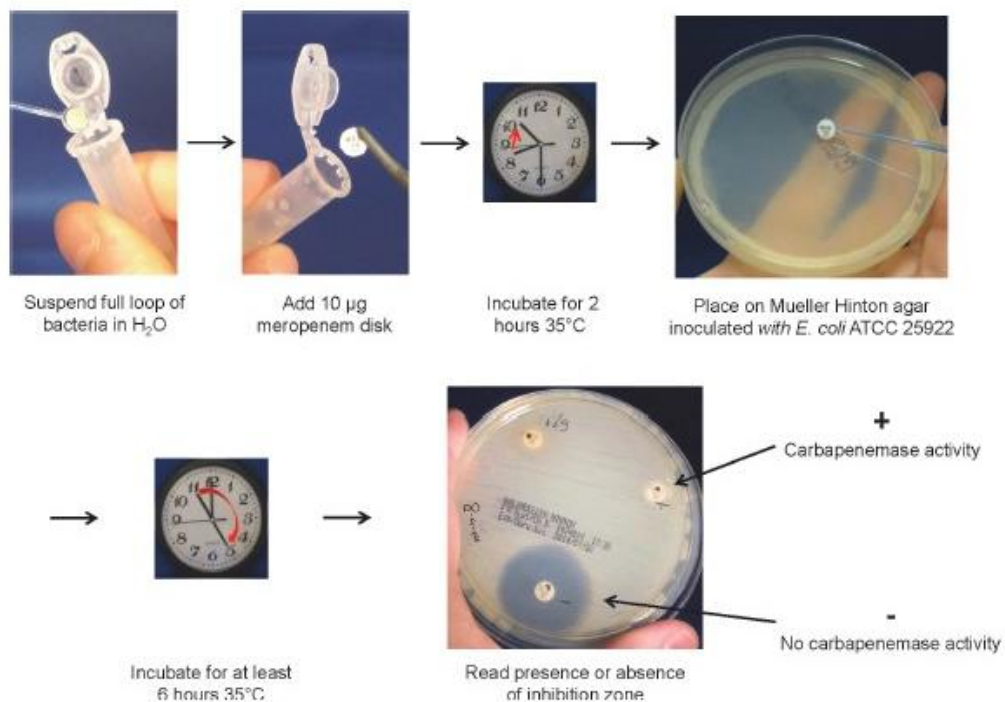
Annexe 07 : Technique de Carbapenem Inactivation Method.
(Van der Zwaluw K et al, 2015)

Technique :

- Un disque de méropénème (10µg) est immergé dans une suspension bactérienne préparée en mélangeant 10 µl de la culture (à l'aide d'une anse de platine) de la souche à tester prélevée à partir d'une gélose MH ou d'une gélose au sang, à 400 µl d'eau physiologique.
- Le milieu est incubé à 35°C pendant au moins 2H.
- Le disque d'ATB est retiré de la suspension et placé sur une gélose MH inoculée avec une souche d'E. Coli sensible (ATCC 29522) de 0,5 McFarland et ensuite incubée à 35 °C pendant 6h.

Lecture :

Un test positif se traduit par une croissance de la souche indicatrice suite à l'inactivation de méropénème par la carbapénémase produite par la souche testée.



Etapas de la Carbapenem Inactivation Method (Van der Zwaluw K et al 2015)

Annexe 08 : Technique de test de synergie sur double disques IMP-EDTA. (Aparna S et al , 2014)

Technique :

-Des suspensions de 0,5 McF de la souche à tester d'une culture de 24h et les soucs témoins sont ensemencées sur MH selon les recommandations du CLSI.

- Un disque d'imipénème (10 µg) est placé à une distance de 15 mm centre à centre d'un disque imprégné d'EDTA (10 µl d'EDTA 0,5 M).

Lecture :

Après 24h d'incubation, la présence d'une zone d'inhibition élargie au tour de disque EDTA est interprétée comme un test positif.



Test de synergie sur double disque
(Aparna S et al 2014)

Annexe 09 : Technique du test du disque combiné IMP-EDTA. (Aparna S et al, 2014)

Technique :

- Des suspensions de 0,5 McF de la souche à tester et les souches de contrôle sont ensemencées sur une gélose MH selon les recommandations du CLSI.

-Un disque d'imipénème (10 µg) est placé à une distance de 20 mm centre au centre d'un autre disque d'imipénème imprégné de 10 µl d'EDTA 0,5 M.

Lecture et interprétation :

-Après une incubation de 24h, une augmentation de la zone d'inhibition au tour du disque combiné IMP-EDTA de plus de 7 mm par rapport au disque d'imipénème seul permet de considérer la souche comme productrice de MBL.

Annexe 10 : Technique de microdilution pour l'étude de la sensibilité à la colistine : Conditions et recommandations de EUCAST-CLSI 2016.

La microdilution est la seule méthode recommandée par le CLSI- EUCAST pour l'étude de la sensibilité à la colistine.

Elle est effectuée dans un volume de 0.05-0.1 ml de la suspension bactérienne et dans les conditions suivantes selon les recommandations CLSI-2015 :

- Le milieu utilisé est une MH ajustée en cations.
- L'inoculum bactérien final est de 5×10^5 UFC/ml.
- Deux séries de dilution sont préparées parallèlement et les concentrations vont de 0.12 à 512 μ g/ml
- L'incubation se fait à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 16-24H dans une atmosphère ambiante.

En complément à ces recommandations, le groupe EUCAST-CLSI pour l'harmonisation des breakpoints des polymyxines recommande le suivant :

- La colistine doit être utilisée sous sa forme colistine sulfate.
- Aucun additif ne doit être rajouter au milieu notamment le surfactant polysorbate 80 ou un autre surfactant.
- Les cupules doivent être fabriquées par du polystyrène et aucun pré-traitement n'est nécessaire.

Résumé

Acinetobacter baumannii est un bacille à Gram négatif non fermentant opportuniste et responsable d'infections nosocomiales. De par son étonnante capacité de développer des résistances à tous les antibiotiques utilisés en clinique et son implication dans les épidémies hospitalières autour du monde, il est actuellement classé à la tête des germes nécessitant un développement rapide des alternatives thérapeutiques. Les résultats du présent travail montrent que l'*Acinetobacter baumannii* est la 2^{ème} étiologie, après les entérobactéries, la plus incriminée dans les infections bactériennes en réanimation polyvalente du CHU de Blida. L'ensemble des souches isolées étaient multirésistantes avec un taux important des souches ultrarésistantes par ailleurs leur caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de la résistance aux bêtalactamines a montré que la surexpression de la céphalosporinase naturelle et la production des carbapénémases notamment de la classe des métallo bêtalactamases étaient les mécanismes prédominants.

Mots clés : *A. baumannii* MDR, *A. baumannii* XDR, réanimation, bêtalactamases, colistine.

Abstract

Acinetobacter baumannii is an opportunistic non-fermenting Gram-negative bacillus responsible for nosocomial infections. It is currently ranked at the head of germs requiring rapid development of therapeutic alternatives because of its capacity to occur resistance to all clinically used antibiotic and its involvement in outbreaks in hospitals around the world. The results of this study show that *Acinetobacter baumannii* is the 2nd etiology, after Enterobacteriaceae, incriminated in bacterial infections in intensive care unite of Blida-UTH. All he isolated strains were multiresistant and a high level of extensively resistant strains were detected. Furthermore, the phenotypic characterization of the enzymatic mechanisms of resistance to beta-lactams in these strains showed that the overexpression of the natural cephalosporinase and the production of carbapenemases, in particular metallo-beta-lactamase, were the predominant mechanisms of resistance to betalactams.

Key words : *A. baumannii* MDR, *A. baumannii* XDR, intensive care unite, betalactamases, colistin.

المخلص

Acinetobacter baumannii هي عصية سالبة الجرام غير مخمرة ، انتهازية و مسؤولة أساسا عن العدوى المكتسبة في المستشفيات. بسبب قدرتها العالية على تطوير مقاومة لجميع المضادات الحيوية المستخدمة سريريًا وتسببها في عدوى وبائية في الكثير من المستشفيات حول العالم، تصنف حاليًا على رأس قائمة الجراثيم التي تتطلب تطويرا سريعا لبدائل علاجية.

تظهر نتائج هذا العمل أن *Acinetobacter baumannii* هي ثاني جرثومة، بعد البكتيريا من عائلة Enterobacteriaceae، المسؤولة عن العدوى البكتيرية في وحدة الإنعاش متعدد الأغراض للمستشفى الجامعي - البلدية. جميع السلالات المعزولة كانت متعددة المقاومة مع مستوى مرتفع من السلالات عالية المقاومة وقد أظهر التوصيف المظهري للآليات الأنزيمية لمقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية من عائلة بيتا لكتام أن الإفراز الأنزيم الطبيعي السيفالوسبوريناز وإفراز الإنزيمات المفككة للكاربابينيم، لا سيما من طبقة بيتا-لاكتاماز المعدنية، هو الآلية السائدة في مقاومة السلالات المدروسة لهذه العائلة من المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: *Acinetobacter baumannii* متعدد المقاومة، *Acinetobacter baumannii* شديدا المقاومة ، وحدة الإنعاش ، بيتا-لاكتاماز ، كولستين.

HARBI Hadjila k.rab42@live.fr	KADRI Hafsa Kadrihafsa18@gmail.com
---	--

RESUME

Acinetobacter baumannii est un bacille à Gram négatif non fermentant opportuniste et responsable d'infections nosocomiales. De par son étonnante capacité de développer des résistances à tous les antibiotiques utilisés en clinique et son implication dans les épidémies hospitalières autour du monde, il est actuellement classé à la tête des germes nécessitant un développement rapide des alternatives thérapeutiques.

Les résultats du présent travail montrent que l'*Acinetobacter baumannii* est la 2^{ème} étiologie, après les entérobactéries, la plus incriminée dans les infections bactériennes en réanimation polyvalente du CHU de Blida. L'ensemble des souches isolées étaient multirésistantes avec un taux important des souches ultrarésistantes par ailleurs leur caractérisation phénotypique des mécanismes enzymatiques de la résistance aux bêtalactamines a montré que la surexpression de la céphalosporinase naturelle et la production des carbapénémases notamment de la classe des métallo bêtalactamases étaient les mécanismes prédominants.

Mots clés : *A. baumannii* MDR, *A. baumannii* XDR, réanimation, bêtalactamases, colistine.

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii is an opportunistic non-fermenting Gram-negative bacillus responsible for nosocomial infections. It is currently ranked at the head of germs requiring rapid development of therapeutic alternatives because of its capacity to occur resistance to all clinically used antibiotic and its involvement in outbreaks in hospitals around the world.

The results of this study show that *Acinetobacter baumannii* is the 2nd etiology, after Enterobacteriaceae, incriminated in bacterial infections in intensive care unite of Blida-UTH. All he isolated strains were multiresistant and a high level of extensively resistant strains were detected. Furthermore, the phenotypic characterization of the enzymatic mechanisms of resistance to beta-lactams in these strains showed that the overexpression of the natural cephalosporinase and the production of carbapenemases, in particular metallo-beta-lactamase, were the predominant mechanisms of resistance to betalactams.

Key words : *A. baumannii* MDR, *A. baumannii* XDR, intensive care unite, betalactamases, colistin