

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

**Dépistage des souches *Acinetobacter baumannii* résistants à l'imipenème au laboratoire et place de la colistine dans la thérapeutique**

**Thèse de fin d'études**

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie**

**Année Universitaire 2016-2017.**

**Présentée par :**

- Khodja Iméne
- Chami Rachida

**Devant le jury :**

- |  |   |
|--|---|
| -Président : <b>Pr Belouni.R</b>       | Professeur en microbiologie-Université de-Blida-          |
| -Examinatrice : <b>Dr Bourouaken.S</b> | Maitre assistante en microbiologie-Université de- Blida-  |
| -Examinatrice : <b>Dr Oukid.S</b>      | Maitre assistante en microbiologie- Université de -Blida- |
| -Promotrice : <b>Dr Benamara.M</b>     | Maitre assistante en microbiologie-Université de -Blida-  |

# Remerciements

*Nous commençons par remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donnée le courage, la santé, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.*

*Nous tenons particulièrement à adresser nos remerciements au Docteur **BENAMARA** qui nous a encadrés tout au long de ce mémoire, qui n'a ménagé aucun effort pour que ce mémoire puisse voir le jour.*

*Je remercie également,*

*Monsieur le Professeur **BELOUNI** qui a bien voulu honoré ce travail en acceptant de présider le jury.*

*Docteur **BOUROAKEN** et docteur **OUKID** pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent également au Docteur **AZROU** pour son soutien et son aide précieuse qui nous ont été très bénéfiques.*

*Nos sincères remerciements au Docteur **MAHFOUD** pour son aide et ses conseils.*

*Ainsi que tout le personnel administratif et médical du **CHU de Blida** qui nous a soutenus et aidés pour la réussite de ce travail.*

# DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail*

*À MES CHERS PARENTS* Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

*À MES CHERS frères Amine et El-hadi, à mon fiancé Sid-Ahmed, à mon ADORABLE petite SŒUR Libya, à ma belle sœur Khadîdja, à mon amie et ma chère sœur Naffisa, à mon neveu notre petit ange Yousef,*

*À mes chères cousines Nassima, Lamya et Linda, ainsi qu'à toute la famille Khodja et Amtout,*

*À Mes chères amies Romaiissa, Nora, Nachida, Soumya, Halima, et Fatima,*

*En témoignage de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*À mon binôme Rachida, ainsi qu'à toute sa famille.*

**IMENE**

# DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail*

*À ceux qui me sont les plus chers au monde, qui n'ont jamais cessé de m'encourager, de prier pour moi, et qui m'ont toujours entouré de toute leur affection et leur amour, Que Dieu vous protège :*

*Mes chers parents **FATIMA** et **M'HAMMED**, mes adorables sœurs **YAMINA** et **SALIMA** mes chers frères **DJAMEL**, **TOUFIK** et **AMINE** ;*

*Une spéciale dédicace à la personne qui compte beaucoup pour moi **AMINE** et pour sa chère mère et son adorable sœur **YASMINE**;*

*À mes chères amies **NARIMENE** et **ROKIA**, **ASMA**, **FATIMA**, **FARIDA**, **NAHLA**, **NAZIHA** mes chers amis **MOULOUD**, **SAMY**;*

*À mon cher binôme **Imène**, ainsi qu'à toute sa famille.*

*Et tant d'autres qui, je l'espère, ne m'en voudront pas de ne pas cités leurs noms.*

*Rachida*

# SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	VII
LISTE DES TABLEAUX .....	X
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XI
GLOSSAIRE .....	XIII
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	3
CHAPITRE I : <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> : RAPPEL BACTERIOLOGIQUE..	4
1-Historique.....	5
2-Taxonomie .....	5
2.1-Classification .....	5
3- Habitat et Caractères bactériologiques: .....	6
3.1-Habitat .....	6
3.2-Caractères bactériologiques.....	7
3.2.1-Caractères morphologiques.....	7
3.2.2-Caractères cultureux .....	8
3.2.3-Caractères biochimiques .....	9
4-Identification de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	10
4.1- Identification protéomique .....	10
4.2-Identification biomoléculaire .....	10
4.2.1-Identification d' <i>A.baumannii</i> par détection du gène <i>bla</i> OXA-51-like.....	11
4.2.2-Identification des espèces appartenant au complexe « <i>A. calcoaceticus/A. baumannii</i> » par PCR multiplexe ciblant le gène <i>gyrB</i> .....	11
4.2.3-Identification des espèces d' <i>Acinetobacter</i> par séquençage du gène <i>rpoB</i> .....	11

4.3-Identification bactériologique de routine au laboratoire de bactériologie .....	12
<b>CHAPITRE II : PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS A <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i>.....</b>	<b>13</b>
1. Facteurs de virulence et persistance dans le milieu hospitalier.....	14
1.1- Réservoir.....	14
1.2- Mode de transmission.....	14
1.2.1-Survie sur les surfaces sèches et formation de biofilm.....	15
1.2.2-Adhésion aux cellules épithéliales humaines.....	15
2- Infections à <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	16
2.1-Infections communautaires.....	16
2.1.1-Pneumonie communautaire acquise .....	16
2.1.2-La méningite communautaire acquise .....	16
2.2- infections nosocomiales.....	17
2.2.1-Pneumonie nosocomiale.....	17
2.2.2-Septicémies.....	17
2.2.3-Méningite nosocomiale.....	18
<b>CHAPITRE III : <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES.....</b>	<b>19</b>
1- Profil de la résistance Naturelle.....	20
2-Profil de la résistance acquise.....	21
2.1- Résistance acquise aux bêta-lactamines.....	21
2.1.1 -Résistance acquise aux pénicillines.....	23
2.1.2-Résistance acquise aux céphalosporines.....	23
2.1.3-Résistance acquise aux carbapénèmes.....	23
2.2-Résistance acquise aux aminosides.....	25

2.3- Résistance acquise aux quinolones.....	25
3- <i>Acinetobacter baumannii</i> : de l'ère de la multirésistance à celle de la totorésistance (souches BMR BTR XDR).....	26
<b>CHAPITRE IV : DEPISTAGE DES SOUCHES ACINETOBACTER</b>	
<b>.BAUMANNIIRÉSISTANTS A L'IMIPENEME.....</b>	
1-Pourquoi dépister ?.....	28
2- Qui et quand dépister ?.....	28
3-La démarche à faire avant le dépistage.....	29
4-Comment prélever ?.....	29
5-Acheminement au laboratoire.....	29
6-Quelles techniques utiliser?.....	30
7.1- Dépistage par culture en utilisant des milieux chromogènes.....	30
7.1.1-l'utilisation du milieu chromogène GELOSE COLOREX ACINETOBACTER.....	30
7.1.2- l'utilisation du milieu chromogène CHROM agar TM Acinetobacter.....	31
7.2- dépistage par technique de biologie moléculaire.....	31
7.2.1-Dépistage par la détection d'une carbapénèmase.....	31
7.2.2- Dépistage en utilisant la technique de PCR .....	31
8-Résultats .....	32
<b>CHAPITRE V : PLACE DE LA COLISTINE COMME TRAITEMENT ET</b>	
<b>RECOMMANDATIONS THERAPEUTIQUES DEVANT UNE INFECTION A</b>	
<b>A.BAUMANNII.....</b>	
1- la colistine, rempart thérapeutique dans l'ère du toto résistance.....	34
1.1-Historique.....	34
1.2- Structure et propriétés.....	34
1.3-Pharmacocinétique.....	35
1.4-Mécanisme d'action .....	36

1.5- Détermination des sensibilités à la colistine (la méthode de la CMI).....	37
1.6-Résistances .....	37
1.7-Synergies.....	37
1.8-Les effets secondaires de la colistine.....	38
2-Recommandations thérapeutique devant une infection à <i>A.baumannii</i> .....	38
2.1-Rôle des Carbapénèmes dans le traitement .....	38
2.2- Place de la colistine .....	39
3-Nouveaux agents thérapeutiques .....	39
<b>CHAPITRE VII : PREVENTION .....</b>	<b>40</b>
1-mesures préventives générales.....	41
1.1-Gestion de l'antibiothérapie.....	41
1.2 -Mesure d'hygiène et d'organisation des soins.....	41
2. Surveillance des bactéries multirésistantes.....	42
3. Contrôle des épidémies à <i>A baumannii</i> .....	43
4. Vaccination.....	43
<b>DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE.....</b>	<b>44</b>
1-Présentation de l'étude .....	45
2-objectifs .....	45
3-Matériels et Méthodes .....	46
3.1. Matériels .....	46
3.1.1-Matériels non biologiques.....	46
3.1.2 -Matériels biologiques.....	47
3.2. Méthode .....	48
3.2.1-Protocole à suivre .....	48
3.2.2-Les critères d'inclusion .....	49



3.3-Analyse des prélèvements.....	49
3.3.1-Examen microscopique.....	49
3.3.2-La mise en culture des prélèvements et l'isolement des souches <i>A. baumannii</i> .....	51
3.4-L'étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les normes du CLSI.....	55
3.4.1-Antibiogramme.....	55
3.4.2--Recherche de la BLSE.....	61
3.4.3-Détermination de la CMI.....	62
<b>RESULTATS.....</b>	<b>69</b>
<b>I-Résultat de l'étude rétrospective.....</b>	<b>70</b>
1-Taux d'isolement de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	70
2-Résultat de l'antibiorésistance des souches <i>A.baumannii</i> .....	71
<b>II -Résultats de l'étude prospective.....</b>	<b>75</b>
1-Le taux d'isolement d' <i>Acinetobacter baumannii</i> durant l'étude prospective.....	75
2-la répartition des souches isolées selon le type de service de provenance.....	76
3-la répartition des souches isolées selon le type de prélèvement.....	77
4-l'étude de la l'antibiorésistance des souches isolées d' <i>A.baumannii</i> .....	78
5-La répartition des souches ABRI selon le type de service de provenance et type de prélèvement.....	80
6-La répartition des souches ABRI selon le service de provenance et le type de service de provenance.....	80
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>82</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>87</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>XVI</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>XXI</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure1:</b> la morphologie d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	7
<b>Figure 2 :</b> Culture d'une souche d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur gélose trypticase soja : colonies «smooths» ou muqueuses » .....	8
<b>Figure 3 :</b> Culture d'une souche d' <i>A baumannii</i> sur gélose Trypticase soja : colonies «rough» ou rugueuse.....	9
<b>Figure 4</b> (photo originale): Les résultats des tests biochimiques pour <i>Acinetobacter baumannii</i> Avec Api 20 .....	9
<b>Figure5 :</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> profil sauvage .....	21
<b>Figure 6 :</b> chronologie de l'apparition des résistances chez <i>A.baumannii</i> .....	25
<b>Figure 7:</b> les patients concernés par le dépistage des <b>ABRI</b> .....	28
<b>Figure 8 :</b> Structure de la colistine (polymyxine E) .....	35
<b>Figure 9 :</b> Mécanisme d'action de la colistine.....	36
<b>Figure 10</b> (photo originale) : aspect microscopique d' <i>Acinetobacter baumannii</i> à l'état frais. Les flèches indiquent les cellules individualisées d' <i>Acinetobacter baumannii</i> (× 40).....	50
<b>Figure 11</b> (photo originale) : Observation d' <i>Acinetobacter baumannii</i> au microscope optique après coloration de Gram, les flèches indiquent les cellules individualisées d' <i>A. baumannii</i> (× 100).....	50
<b>Figure 12</b> (photo original) Observation macroscopique d'une culture de souche <i>Acinetobacter baumannii</i> sur milieu GN.....	51
<b>Figure 13</b> (photo originale) : test à l'oxydase.....	52
<b>Figure 14</b> (photo originale): test à la catalase.....	52
<b>Figure 15</b> (photo originale) : Résultat de la lecture du test d'ONPG.....	53
<b>Figure 16</b> (photo originale): Résultats de la lecture du milieu mannitol mobilité.....	53
<b>Figure 17</b> (photo originale): Résultat de la lecture du milieu citrate de Simmons.....	54
<b>Figure 18</b> (photo originale) : galerie Api 20 NE.....	54
<b>Figure 19</b> (photo originale) : galerie Api 20 E.....	55
<b>Figure 20:</b> (photo originale) :Résultat d'antibiogramme d' <i>A.baumannii</i> .....	60
<b>Figure 21</b> (photo originale) Résultat d'antibiogramme d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	61
<b>Figure 22</b> (photos originales) : la lecture des CMI par la technique de dilution en gélose.....	65
<b>Figure 23:</b> Zone d'inhibition d'une bandelette à CMI pour une souche <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	68
<b>Figure24</b> (photo originale) : Capture d'écran du logiciel Whonet 5.6.....	68

<b>Figure 25</b> : Evolution du taux d'isolement d' <i>A.baumannii</i> de 2012 à 2016.....	<b>71</b>
<b>Figure 26</b> : Répartition des souches des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème colligées selon le service de provenance.....	<b>73</b>
<b>Figure 27</b> : Répartition des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème colligées selon le type de prélèvement.....	<b>74</b>
<b>Figure 28</b> : Répartition des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> colligées selon le type de service de provenance.....	<b>76</b>
<b>Figure 29</b> : Répartition des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> colligées selon le type de prélèvement.....	<b>77</b>
<b>Figure 30</b> : La répartition des souches selon le type de prélèvement.....	<b>80</b>
<b>Figure 31</b> : La répartition des souches ABRI selon le service de provenance.....	<b>80</b>
<b>Figure 32</b> : La répartition des souches ABRI selon le type de service de provenance.....	<b>81</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau1</b> : Les caractères biochimiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> . (Avril et al 2010).....	10
<b>Tableau 2</b> : les Beta-lactamases décrites chez <i>Acinetobacter baumannii</i> (revue francophone des laboratoires - avril 2012).....	22
<b>Tableau3</b> : Phénotypes de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> vis-à-vis des bêta lactamines .....	24
<b>Tableau 4</b> : les techniques à utiliser pour faire le dépistage des ABRI.....	30
<b>Tableau 5</b> : Méthode de réalisation et les conditions de transport des prélèvements.....	48
<b>Tableau 6</b> : Résultats de la galerie API 20 E.....	55
<b>Tableau 7</b> : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Acinetobacter spp</i> .....	58
<b>Tableau 8</b> : Souches de contrôle de qualité de l'antibiogramme.....	60
<b>Tableau 9</b> : Evolution du taux d'isolement d' <i>A.baumannii</i> de 2012 à 2016.....	70
<b>Tableau 10</b> : taux de résistance de l' <i>Acinetobacter baumannii</i> à la Ceftazidime, ciprofloxacine et l'imipénème de 2012 à 2016.....	72
<b>Tableau 11</b> : Répartition des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème colligées selon le service de provenance.....	73
<b>Tableau 12</b> : Répartition des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème colligées selon le type de prélèvement.....	74
<b>Tableau 13</b> : Répartition des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> colligées selon le type de service de provenance.....	76
<b>Tableau 14</b> : Répartition des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> colligées selon le type de prélèvement.....	77
<b>Tableau 15</b> : Profil d'antibiorésistance des souches résistantes à l'imipénème.....	78
<b>Tableau 16</b> : Les résultats des CMI à l'imipénème pour les 22 souches qui ne présentent aucune sensibilité.....	79
<b>Tableau 17</b> : Comparaison des résultats de notre étude avec les rapports AARN sur la résistance aux antibiotiques.....	84

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**A baumannii:** *Acinetobacter baumannii*.

**AB-MDR:** *Acinetobacter baumannii* Multidrug Resistant.

**ADH:** Arginine dihydrolase.

**ADC:** *Acinetobacter* Derived Cephalosporinase.

**AFLP:** Amplified Fragment Length Polymorphism.

**AMM :** Autorisation de Mise sur le Marché.

**ARNr :** Acide Ribonucléique.

**ASC :** Aire Sous la Courbe.

**ATCDs :** Antécédents.

**BGN :** Bacille Gram Négatif.

**BLM-CTXM:** Béta Lactamase Céfoximase Munich.

**BLM-TEM:** Béta Lactamase TeMoneira

**BLM-VEB:** Béta Lactamase Vietnam Extended Resistance.

**BLSE :** Béta Lactamase Spectre Etendu.

**BMR :** Bactérie Multi Résistante.

**CEI :** Cellules Entières Inactivées.

**C1G :** Céphalosporines de 1ère Génération.

**C2G :** Céphalosporines de 2ème Génération.

**C3G :** Céphalosporines de 3ème Génération.

**ClCr :** Clairance de la Créatinine.

**CLIN :** Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiale.

**CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice.

**CMS :** Colisthémate Sodique.

**CPM :** Concentration Prévenant l'émergence de Mutations.

**DDS :** Décontamination Digestive Sélective.

**EDTA :** Ethylène Diamine Tétracétique Acide.

**EUCAST:** The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

**G+C :** Guanine + Cytosine.

**Gel :** Gélatine.

**GES** : Guyana Extended Spectrum.

**HPLC**: High-performance liquid chromatography, La chromatographie en phase liquide à haute performance.

**HMIMV**: Hopital Militaire d'Instruction Mohamed V.

**IMP**: Imipénème.

**IND**: Indole.

**I** : Intermédiaire.

**IN** : Infection Nosocomiale.

**LDC** : Lysine Décarboxylase

**LCR** : Liquide Céphalo Rachidien.

**LPS**: Lipo Poly Saccharide.

**LDC** : Lysine décarboxylase.

**MAL** : Maltose.

**MYSTIC**: Meropenam Yearly Susceptibility Test Information Collection.

**NMD**: Nonsense Mediated Defense.

**ODC**: Ornithine Décarboxylase.

**ONERBA** : Observation Nationale d'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotique.

**OXA** : Oxacillinase.

**PLP** : Protéine de Liaison à la Pénicilline.

**PN** : Pneumonie Nosocomiale.

**PNAV** : Pneumopathie Acquisée sous Ventilations Mécanique.

**R**: Résistante.

**S** : Sensible.

**SHV** : Sulfhydryl Variable.

**SXT** : Sulfaméthoxazole Triméthoprime.

**ONPG**: Ortho-nitro phényl β-galactoside..

**PDA** : Phénylalanine désaminase.

**URE** : Urée.

**VF** : Viande Foie.

**VEMS** : Volume Expiratoire Maximum Seconde.

**XDR**: Extensively-Drug Resistant bacteria

## LE GLOSSAIRE

**Abiotique** : Relatif à un milieu ne permettant pas le développement de la vie.

**Activité bactéricide** : Est une substance ayant la capacité de tuer des bactéries.

**Amplification génique** : Multiplication de manière exponentielle d'un fragment d'ADN cible.

**Antibioprophylaxie** : Appelée également antibioprévention, est l'utilisation d'un antibiotique dans un but thérapeutique afin de prévenir l'éventuelle survenue d'une infection susceptible d'être dangereuse.

**Antibiorésistance** : Est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques.

**Antibiothérapie** : Est un traitement par antibiotique.

**Bacille** : Est une bactérie de forme allongée dite « en bâtonnet », par opposition à la forme cocci (« ronde »).

**Bactérie anaérobie** : Les bactéries anaérobies ne peuvent se cultiver qu'en l'absence de l'air ambiant ou de l'oxygène.

**Bactérie commensale** : Les bactéries commensales sont des bactéries qui vivent des déchets qui se trouvent à l'extérieur de nos tissus (comme la peau et les muqueuses de la bouche, de la gorge et du reste du système digestif). Ils sont parfaitement adaptés pour survivre dans ces endroits bien spécifiques.

**Bactéricide** : Est une substance ayant la capacité de tuer des bactéries.

**Bactérie ubiquitaire** : Se sont des bactéries présentes dans tous les types de biotopes rencontrés sur terre.

**Biofilm bactérien** : Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface.

**Biotique** : Relatif à un milieu permettant le développement de la vie.

**Bronchoconstriction** : Obstruction des bronches qui peut entraîner une difficulté respiratoire.

**Bronchospasme** : Le bronchospasme est une diminution du calibre des bronches, correspondant à chacun des conduits aériens, nés de la division de la trachée en deux, et à chacune de leurs ramifications.

**Cocobacille** : Est une forme microscopique de bactéries, les coccobacilles sont ovales

**Exacerbation** : Augmentation épisodique ou régulière ou l'intensité d'une maladie

**Impasse thérapeutique** : Survient chez un patient lorsque tous les traitements envisageables de sa maladie se sont révélés inefficaces ou présentent des effets secondaires intolérables.

**Infection nosocomiale** : Est une infection survenant au cours ou à la suite de la prise en charge d'un patient, à condition que l'infection ne soit ni présente, ni en incubation au moment de la prise en charge.

**Infection opportuniste** : Est une infection due à des germes habituellement peu agressifs mais dont la pathogénicité est amplifiée par le terrain immunitaire déficient du malade, sa sensibilité aux infections.

**Manuportée** : Désigne le mode de transmission par les mains.

**Méthode génomique** : Est une discipline de la biologie moderne. Elle étudie le fonctionnement d'un organisme, d'un organe, d'un cancer, etc. à l'échelle du génome, au lieu de se limiter à l'échelle d'un seul gène .

**Méthode protéomique** : Désigne la science qui étudie les protéomes, c'est-à-dire l'ensemble des protéines d'une cellule, d'un organite, d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme à un moment donné et sous des conditions données.

**Mucoviscidose** : Est une maladie génétique et héréditaire qui touche les cellules qui tapissent différents organes tels que les voies respiratoires, le tube digestif, les glandes sudorales en altérant leurs sécrétions (mucus, sueur, ...).

**Néphrotoxicité** : Est causée par certaines substances qui peuvent causer des dommages aux reins, au niveau glomérulaire, tubulaire, interstitielle et vasculaire. Le rein a des caractéristiques qui la rendent vulnérables à ces substances.

**Neurotoxicité** : Est l'action d'une substance toxique sur le système nerveux.

**La pharmacocinétique** : A pour but d'étudier le devenir d'une substance active contenue dans un médicament après son administration dans l'organisme.

**Phénotypique** : Ensemble de caractères déterminés par un génotype, propres à une personne .



**Pneumonie nosocomiale :** Appelée aussi pneumopathie hospitalière apparaît au cours d'une hospitalisation après un délai d'au moins 24 heures.

**Pneumopathie :** Regroupe l'ensemble des pathologies affectant les poumons, qu'il s'agisse de pneumopathie aigüe ou de pneumopathie chronique.

**Pro- drogue :** Est une substance pharmacologique (un médicament) qui est administrée sous une forme inactive (ou beaucoup moins active que son métabolite). Une fois administrée, la prodrogue est métabolisée in vivo en un métabolite actif.

**Rhabdomyolyse :** Désigne une situation dans laquelle des cellules des muscles squelettiques, se dégradent rapidement, libèrent leur contenu dans la circulation sanguine .

**Septicémie :** Une infection généralisée due à des microbes pathogènes, qui génèrent des décharges bactériennes à répétition dans le sang, à partir d'un foyer infectieux.

**Taxonomie :** Classification, suite d'éléments formant des listes qui concernent un domaine, une science.

# Introduction

*Acinetobacter baumannii* est un coccobacille à Gram négatif qui a attiré énormément d'attention depuis 40 ans comme étant le plus important pathogène bactérien émergent.

En effet, il est passé d'une bactérie considérée comme peu pathogène et multi-sensible à la bactérie pionnière dans la multirésistance aux antibiotiques (**Peleg A et al 2008; Fagon J et al 1996**). Cette bactérie occupe actuellement une place importante en pathologie hospitalière à l'échelle mondiale. Elle est capable de coloniser les surfaces biotiques et abiotiques avec une grande résistance aux désinfectants ainsi qu'à la dessiccation par sa forte capacité à former des biofilms (**Garnacho J et al 2003, Lee N et al 2007**). La fréquence ainsi que la gravité des infections dues à *A.baumannii* (pneumopathies, sepsis, infections suppurées, méningites...), traduisent des difficultés de prise en charge liées principalement à leur résistance aux antibiotiques et mettant le clinicien face à des situations d'impasse thérapeutique (**Perez F et al 2007, Leung W et al 2006**).

En effet, le modèle d'adaptation de l'*A.baumannii* est particulièrement efficace par sa capacité à disséminer dans l'environnement hospitalier essentiellement dans les services de soins intensifs (**Peleg A et al 2008**). Les infections causées par l'*A.baumannii* sont associées à une prolongation de la durée d'hospitalisation, à une augmentation des coûts de traitement mais surtout à une morbidité et une mortalité élevées (**Wang J et al 2002**).

La connaissance de l'épidémiologie locale est primordiale pour suivre les tendances en matière de résistance bactérienne aux antibiotiques chez cette bactérie, de déterminer l'ampleur de ce phénomène, adapter les protocoles de l'antibiothérapie probabiliste au profil de résistance aux antibiotiques de ce germe et d'évaluer les actions de lutte contre cette bactérie (**Perez F et al 2007**).

L'existence de souches résistantes à tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique humaine place l'*A.baumannii* parmi les organismes qui menacent l'arsenal thérapeutique actuel. Compte tenu du nombre et de la diversité des déterminants de résistance identifiés chez cette bactérie, le choix des molécules lors du traitement empirique est un vrai défi. Les carbapénèmes ont été longtemps considérés comme le traitement de choix des infections à l'*Acinetobacter baumannii*.

Aujourd'hui l'utilité clinique de cette classe est menacée par l'émergence de résistances, favorisée par son utilisation de plus en plus importante en lien avec l'émergence des entérobactéries multirésistantes. Actuellement, les associations de molécules et/ou l'utilisation d'antibiotiques anciens comme la colistine sont souvent les seules possibilités.

**PREMIERE PARTIE :**  
**ETUDE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE I :**  
***ACINETOBACTER BAUMANNII* : RAPPEL**  
**BACTERIOLOGIQUE**

## 1-Historique :

La découverte du genre *Acinetobacter* remonte au début du 20<sup>ème</sup> siècle, en 1911 quand «Beijernick», un microbiologiste allemand avait décrit un organisme du sol qu'il avait nommé *Micrococcus calcoaceticus* en le cultivant dans un milieu enrichi en calcium-acétate (**Howard A et al 2012**). Plusieurs espèces bactériennes similaires ont été découvertes par différents scientifiques durant les quatre décennies qui ont suivi et avaient donné au même organisme différents noms et l'avaient attribué à au moins 15 genres et espèces (**Henriksen SD et al 1973**).

L'appellation actuelle du genre, *Acinetobacter* (Du grec ακινητος [akinetos] ; immobile) fut proposée pour inclure toutes les espèces immobiles appartenant à *Achromobacter* par Brisou et Prévot (**Brisou J, Prevot Ar 1954**).

Avec les études biochimiques comparatives approfondies menées par Baumann et ses collègues, le genre *Acinetobacter* a été finalement retenu et reconnu par le comité de la nomenclature des bactéries dans la taxonomie de *Moraxella* et bactéries alliées en 1971 (**Baumann P et al 1986**).

En 1986, *Acinetobacter baumannii* a été reconnu suite à l'étude de Bouvet et Grimont qui ont identifié 12 espèces d'*Acinetobacter* dont l'*A. baumannii* qu'ils ont nommé en l'honneur des biologistes américains Paul et Linda Baumann (**Howard A et al 2012**).

## 2-Taxonomie :

La taxonomie du genre *Acinetobacter* a vécu une longue histoire de débats et de changements (**Henriksen S et al 1973**)

Le genre *Acinetobacter* a appartenu pendant longtemps à la famille des *Neisseriaceae*, mais il fait parti depuis 1991 de la famille *Moraxellaceae* avec *Moraxella* et *Psychrobacter*, au sein de l'ordre *Gammaproteobacteria*.

### 2.1-Classification :

Une espèce bactérienne est définie comme étant un groupe de souches qui partagent des traits phénotypiques proches. Cependant l'identification des espèces au sein des *Acinetobacter* est difficile parce que les systèmes d'identification phénotypique ainsi que les nouveaux systèmes d'identification automatique utilisés actuellement en routine dans certains laboratoires sont inadéquats pour ce genre (**Visca P et al : 2016**).

L'avenue des techniques moléculaires dans la taxonomie des bactéries a permis de déterminer objectivement les relations entre les espèces et au sein de la même espèce (**Visca P et al : 2016**).

Actuellement, le genre *Acinetobacter* englobe 25 espèces auquel un nom officiel a été donné et d'autres sont reconnues sans attribution d'un nom officiel (**Howard A et al 2012, Joly-Guillou M : 2013, Nemeč 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 *A.calcoaceticuse-A.baumannii* a été créé par Gerner-Smidt et al pour grouper ces quatre espèces : *A.calcoaceticus*, *A.baumannii*, *A.pittii*, et *A.nosocomialis* (**Joly-G et al 2013**).

- Règne : des bacteria.
- Embranchement des Procaryotes.
- Division des Proteobacteria.
- Classe des Gamma-proteobacteria.
- Ordre des Pseudomonadales.
- Famille Moraxellaceae.
- Genre *Acinetobacter*.
- Espèce *Acinetobacter baumannii* (**Euzéby, 2010**).

### **3- habitat et caractères bactériologiques:**

#### **3.1-Habitat :**

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des bactéries ubiquitaires, isolées de l'environnement mais aussi de la flore cutanée de l'homme.

Un mystère demeure quant à l'habitat primaire d'*Acinetobacter baumannii*. Bien que l'idée soit répandue que son habitat principal soit l'hôpital, il s'agit bien entendu de son habitat secondaire. Jusqu'à ce jour, aucune étude n'a pu démontrer la véritable origine de cette espèce. *A.baumannii* est capable de coloniser la peau, en réalisant une adhérence aux cellules

hôtes qui est la première étape essentielle dans la colonisation (**Holloway K et Al : 1939, Martin C et al 2000**).

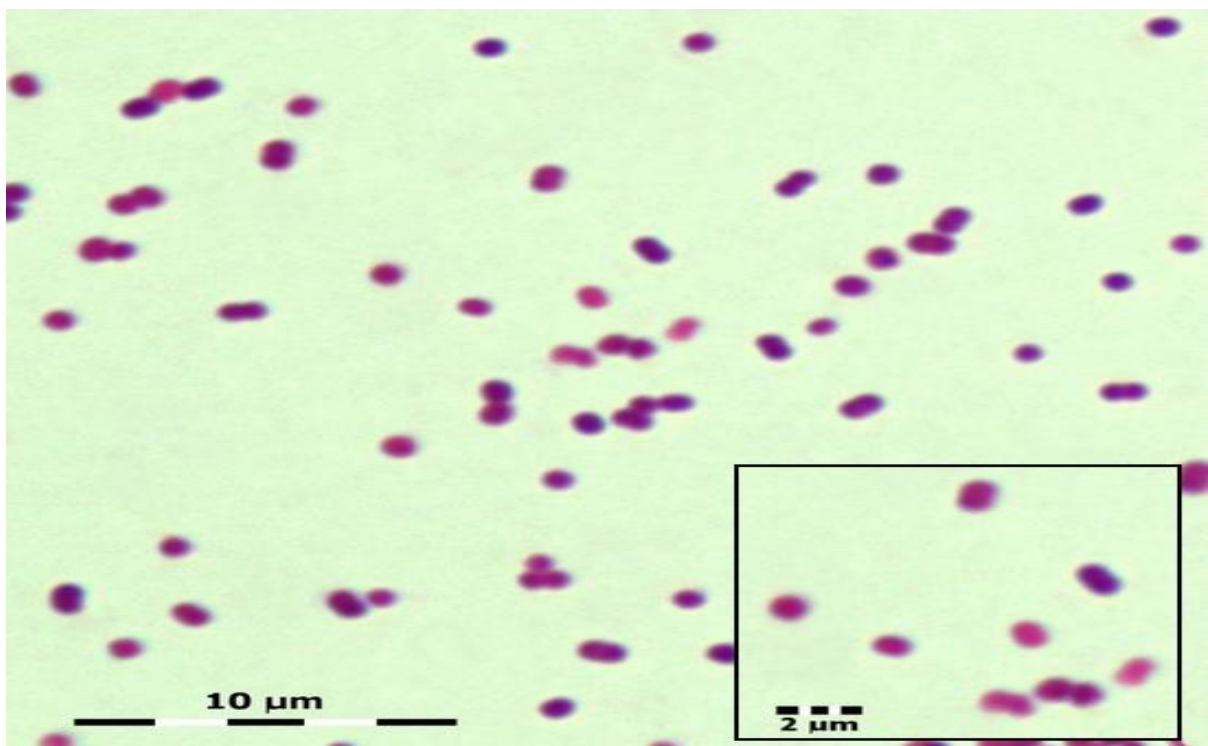
## 3.2-Caractères bactériologiques

### 3.2.1-Caractères morphologiques

Les *Acinetobacter* sont définis comme étant des cellules de 1.5  $\mu\text{m}$  de longueur dont la forme varie en fonction de la phase d'évolution de cocciforme à coccobacilles à Gram négatif.

Il est souvent associés en diplobacilles à extrémité arrondie avec des formes cocoïdes ou en courtes chaînes et sous formes filamenteuses dans les cultures âgées (**Delmas, 2008;Guillou et al. 2012**). Ils sont non sporulés, trapus, parfois capsulés, immobiles, non pigmentées (**Delmas, 2008 ; Giamarellou et al. 2008**).

Certains *Acinetobacter baumannii* résistent parfois à la décoloration par l'alcool - acétone lors de la coloration de Gram et apparaissent au microscope comme des bacilles à Gram positif (**Avril et al. 2000**).



**Figure1:** la morphologie d'*Acinetobacter baumannii* (**Nadia Hidri, 2012**).

### 3.2.2-Caractères culturaux :

Les bactéries appartenant à l'espèce *Acinetobacter baumannii* sont des bactéries aérobies stricts, catalase positive et oxydase négative .ils se cultivent facilement sur les milieux usuels en 24 heures en donnant des colonies arrondies à bords lisses, réguliers. L'isolement en milieu

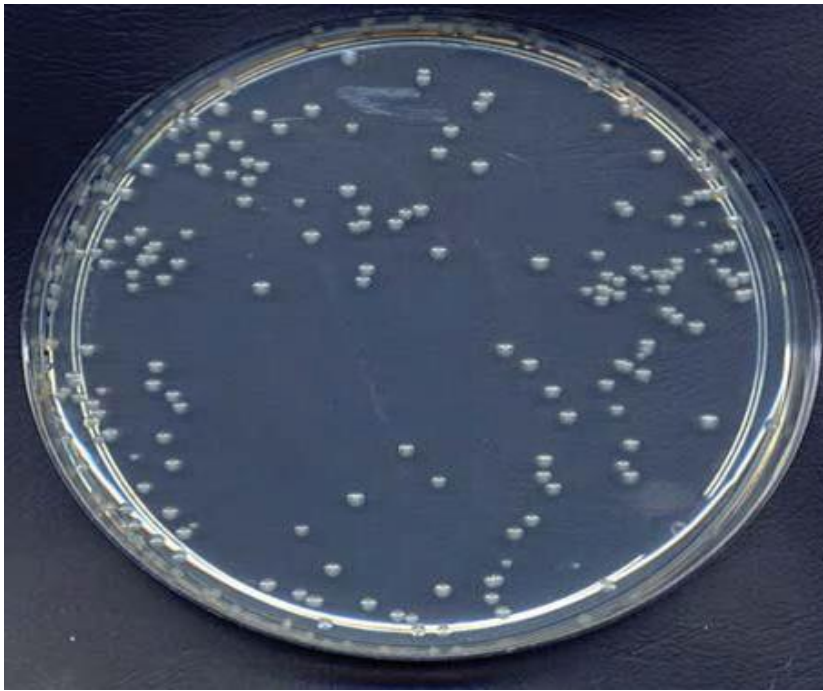


solide peut être obtenu après incubation à température comprise entre 30 et 37 °C sur milieux conventionnels (gélose au sang, gélose «chocolat », gélose trypticase soja, gélose BCP, etc. ...).

Seules les espèces *A.baumannii* et certaines souches du groupe génomique 13 T et U (*A.nosocomialis* sp.nov) sont capables de croître à 44°C, caractère particulièrement utile pour leur identification. Sur les milieux dédiés aux bacilles à gram négatif comme la gélose Mac Conkey ou la gélose de Drigalski, les colonies apparaissent en général lactose négatif sur les milieux lactosés car lorsque l'attaque oxydative du lactose a lieu celle-ci est souvent retardée (**François Denis et al, 2007**). Les souches capsulées sont facilement identifiables en culture. Elles présentent un aspect muqueux ou «smooth» (figure 2) alors que les colonies de souches non capsulées sont plus petites et présentent un aspect rugueux ou «rough» (figure 3) (**Nadia Hidri, 2012**).



**Figure 2** : Culture d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* sur gélose trypticase soja : colonies «smooths» ou muqueuses » (**Nadia Hidri ,2012**).



**Figure3** : Culture d'une souche d'*A.baumannii* sur gélose Trypticase soja : colonies «rough» ou rugueuses (Nadia Hidri, 2012).

### 2.2.3-Caractères biochimiques :

Ils possèdent une oxydase négative et catalase positive avec un contenu en guanine+ cytosine de 39% -47% et une nitrate réductase (Peleg A et al 2008).

La plupart des espèces d'*Acinetobacter* sont métaboliquement polymorphes. Une réponse variable est obtenue pour l'hydrolyse de la gélatine. Quelques souches produisent une uréase ou une phénylalanine désaminase d'activité faible (Gillespie et Hawkey 2006).

*A.baumannii* capable d'utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie (Zahoun et al. 2010).



**Figure 4 (photo originale):** Les résultats des tests biochimiques pour *Acinetobacter baumannii* Avec kit API 20 E.

Tests	ADH	ONPG	GEL	H2S	IND	MAL	PDA	LDC	ODC	URE	VP
Résultats	-	-	-	-	+	+/-	+/-	-	-	+	-

**Tableau 1** : Les caractères biochimiques d'*Acinetobacter baumannii* (Avril et al 2010).

## 4 -Identification d'*Acinetobacter baumannii* :

### 4.1- Identification protéomique :

La spectrométrie de masse par désorption laser assistée par matrice (matrix assisted laser désorption ionisation time of flight ou MALDI-TOF) permet l'identification des microorganismes par analyse de leur contenu protéique, principalement les protéines ribosomales (Carbonelle E, Nassif X. 2011).

Dans la spectrométrie de masse MALDI-TOF, l'échantillon est mélangé à la matrice et placé sur une lame. Le dépôt formé est appelé cible, une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon.

Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. les molécules plus grandes mettront plus de temps à atteindre le détecteur tandis que les molécules plus petites arriveront plus vite , une fois arrivé au détecteur le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre.

L'identification du genre *Acinetobacter* est relativement aisée quelles que soient les méthodes utilisées, phénotypiques ou autres. En revanche, l'identification au niveau de l'espèce est plus ardue, pouvant nécessiter des méthodes génomiques, réservées à des laboratoires spécialisés.

Les méthodes protéomique, à condition que leur base de données soit consolidée, semblent prometteuses, mais restent à ce jour réservées à des laboratoires de taille suffisante pour absorber le surcoût initial de l'achat du matériel. (Tonella M, 2011).

### 4.2-Identification biomoléculaire

Pour l'identification d'une souche d'*Acinetobacter* au rang de l'espèce, la méthode d'hybridation DNA-DNA demeure la méthode de référence parmi les méthodes génomiques qui restent réservées à des structures spécialisées (Héritier C et al 2005).

*A. baumannii* est de loin la première espèce du genre *Acinetobacter* responsable d'infections nosocomiales. Il est donc important de pouvoir distinguer rapidement et sans ambiguïté cette espèce des autres. Ainsi, dans le but de répondre à cette problématique, des tests génotypiques, c'est-à-dire faisant appel à la biologie moléculaire, ont été explorés, parmi ces méthodes on a :

#### **4.2.1 - Identification d'*A.baumannii* par détection du gène *bla* OXA-51-like :**

*A. baumannii* possède une oxacillinase intrinsèque, chromosomique, et codée par le gène *bla* OXA-51 like. Ce dernier ne confère toutefois la résistance aux carbapénèmes que lorsqu'il est associé à la séquence d'insertion IS*Aba*1 en amont.

Différentes études ont montré que le gène *bla* OXA-51 like était présent dans la totalité des souches d'*A. baumannii* testées. Etant spécifique à cette espèce, ce gène est à ce jour utilisé dans de nombreuses études relatant la détection de la bactérie en pathologie humaine, et notamment lors d'épidémies (**J Clin 2006**).

#### **4.2.2-Identification des espèces appartenant au complexe « *A. calcoaceticus/A. baumannii* » par PCR multiplexe ciblant le gène *gyrB* :**

La variabilité du gène *gyrB* codant la sous-unité bêta de l'ADN gyrase a été mise à profit pour différencier les espèces appartenant au complexe « *A.calcoaceticus-A.baumannii* ».

Le principe est basé sur la technique de PCR multiplexe qui discrimine les espèces selon la longueur de l'amplicon obtenu. Higgins et al ont mis au point cette technique à partir de quatre couples d'amorces qui sont utilisés dans une même réaction d'amplification. Suite à la PCR, les produits d'amplification sont différenciés par leur taille après électrophorèse sur gel d'agarose (**Higgins P et al 2010**).

#### **4.2.3-Identification des espèces d'*Acinetobacter* par séquençage du gène *rpoB***

Le gène *rpoB* code la sous-unité bêta de l'ARN polymérase et est présent chez les bactéries. Ce gène possède des zones conservées et d'autres hypervariables. Des études réalisées par Gundi et al ont permis d'identifier un fragment de 350 pb appelé « zone 1 » qui permet de discriminer aisément les différentes espèces d'*Acinetobacter* (**Gundi V et al 2009**).

L'apport de la biologie moléculaire dans l'identification d'*A. baumannii* n'est plus à démontrer, d'autant plus que c'est actuellement l'outil le plus fiable pour différencier l'espèce *A. baumannii* des autres espèces. Toutefois, la plupart des outils de biologie moléculaire (appareils de PCR en temps réel, séquenceurs...) reste cantonnée dans les grands laboratoires. La généralisation des tests de biologie moléculaire ne se fera probablement que lorsque leur degré d'automatisation sera suffisant pour permettre une réduction des coûts financiers ou une économie en personnels (**Higgins P et al 2010**).

### **4.3-identification bactériologique de routine au laboratoire :**

Devant un coccobacille à Gram négatif ou variable, aérobie stricte, catalase positive, immobile entre lame et lamelle et négatif au test d'oxydase, il y a une forte suspicion d'*Acinetobacter*. Le diagnostic différentiel avec un staphylocoque devra être envisagé à la coloration de Gram ; le doute est levé à la culture (**Gerner-Smidt P et al 1991**) (**Peleg A et al 2008**).

Les résultats évocateurs d'*Acinetobacter baumannii* sont la positivité du glucose, du melibiose et de l'arabinose. Sur galeries Api 20NE, l'identification est facile pour toutes les souches d'*Acinetobacter* au rang de genre mais pas au rang d'espèce. L'association de ces critères au rang de genre, associé à la température de croissance positive à 44° permet de donner le nom d'*Acinetobacter baumannii* (**François Denis et al, 2007**).



**CHAPITRE II :**  
**Physiopathologie des infections à**  
*Acinetobacter baumannii*

## **1-Facteurs de virulence et persistance dans le milieu hospitalier :**

*Acinetobacter baumannii* est un pathogène émergent important, il est de plus en plus souvent identifié comme responsable d'infections, en particulier dans les services de soins intensifs (pneumopathies sous ventilation mécanique, bactériémies, méningites, infections profondes des tissus mous) (**Masson E 2012**).

L'*Acinetobacter* a été largement médiatisé ces dernières années en raison des épidémies de grande envergure dont il a été l'origine (**Naas T et al 2006**).

Certaines souches de cette bactérie sont multirésistantes aux antibiotiques et peuvent persister plusieurs mois chez les patients colonisés (**Perez F et al : 2007**).

### **1.1- Réservoir**

L'*A.baumannii* est une bactérie commensale chez l'homme sain qui peut être retrouvée de façon transitoire à faible densité sur les zones de peau chaude et humide , comme le montre des études sur des patients non hospitalisés qui ont retrouvé des taux d'isolement au niveau de la peau variant de 0.5% à 3% ( **Berlau J et al 1999-Jaggi N:2012** ),et dans les selles humaines avec 0,8% ( **Dijkshoorn L et al 2005** ). L'*A.baumannii* a été occasionnellement responsable d'infections chez l'animal, et a été isolé dans les végétaux (**Berlau J et al 1999**).

Dans les milieux hospitaliers, l'*A.baumannii* colonise la peau humaine, les muqueuses ainsi que les équipements médicaux, eaux des robinets, les lits, les matelas, les rideaux, les oreillers, les surfaces métalliques, les poignets des portes ; les distributeurs de solutions désinfectantes ; les chariots en acier et même les ordinateurs (**Seifert H et al 2008**).

### **1.2- Mode de transmission**

La transmission de l'*Acinetobacter baumannii* est essentiellement manu portée par l'intermédiaire du personnel hospitalier au contact de sujets porteurs (**Garca-Garmendia J et al 2001, Menon T et al 2006**).

Ainsi, la multiplication des actes de soins et également l'utilisation de dispositifs invasifs sont des facteurs de risque de transmission de cette bactérie (**Menon T et al 2006**).

A noter qu'une étude expérimentale avait rapportée que ce germe peut survivre pendant 60 min sur les doigts d'une main (**Grotiuz G et al 2010**).

### **1.2.1-Survie sur les surfaces sèches et formation de biofilm :**

La contamination de l'environnement a été démontrée dans plusieurs épidémies et plusieurs expériences ont montré que l'*A.baumannii* peut survivre sur de multiples surfaces abiotiques, y compris le plastic, inox, céramique, caoutchouc et le verre (**Allaouchiche B 2004, Bochud PY et al 2001**).

Certaines souches épidémiques ont même pu être isolées à partir d'un support de lit 9 jours après que le patient infecté soit déclaré sortant (**Bochud PY et al 2001, Falagas M et al 2005**). Le mécanisme essentiel de la persistance d'*A.baumannii* sur les surfaces abiotiques tel que les équipements médicaux et les surfaces de l'environnement est la formation d'un biofilm. Une étude a montré que les souches formant des biofilms survivaient plus longtemps que les souches ne formant pas de biofilm (36 jours contre 15 jours) (**Allaouchiche B : 2004**).

Un biofilm est une communauté structurée d'organismes qui se fixe à une surface par des substances exo polymériques qui assurent une protection de l'environnement et de la dessiccation par des détergents (**Falagas M et al 2006**).*A.baumannii* forme ainsi un biofilm sur la surface grâce à la production de pilis qui sont assemblés par un système de sécrétion impliqué dans l'adhésion aux surfaces et un polysaccharide extracellulaire qui fonctionne comme un adhésif intercellulaire au sein du biofilm (**Berlana D et al 2005**).

Ces éléments avec la protéine associée au biofilm (Biofilm-Associated Protein : BAP), jouent un rôle essentiel dans les biofilms en augmentant l'adhérence cellulaire et en favorisant la persistance ainsi que la maturation du biofilm sur des surfaces comme le verre, polystyrène et le titane (**Michalopoulos A et al 2005, Falagas ME et al 2006**). Par conséquent, les propriétés du film biologique conduisent à la réduction de l'efficacité du nettoyage et de la désinfection favorisant ainsi la persistance des bactéries dans l'environnement, d'autant plus que les pratiques de désinfection sont inadéquates pour le contrôle du développement des biofilms (**Fechkeur Y et al 2008**).

### **1.2.2-Adhésion aux cellules épithéliales humaines**

Chez l'*A.baumannii*, la protéine associée au biofilm (BAP) joue comme pour les surfaces abiotiques un rôle important dans l'adhésion aux cellules épithéliales, les protégeant ainsi de la phagocytose en affectant l'hydrophobicité de la surface cellulaire (**Martin C et al 2000**).



## **2- Infections à *Acinetobacter baumannii***

### **2.1-Infections communautaires**

*Les Acinetobacter* sont des pathogènes opportunistes et sont impliqués dans les infections aiguës chez l'être humain sur un terrain généralement débilisé. Les infections à *Acinetobacter* restent rares et ont été décrites depuis 20 ans : elles représentent 0,1 % des infections communautaires et sont le plus souvent pulmonaires et d'évolution plus grave que les pneumopathies nosocomiales avec une prédilection pour les zones tropicales (**García-Garmendia J et al 2006**). *A.baumannii* fait parti des premiers agents isolés lors des infections en zone de guerre et en cas de catastrophe naturelle mais il est encore difficile d'expliquer l'origine de cette forte prévalence (**Desai T. et al 2003**).

#### **2.1.1- Pneumonie communautaire acquise :**

La plupart des études des pneumonies communautaires acquises dues à *A baumannii* provenaient de Chine, Taiwan et d'Australie. La maladie survient surtout chez les patients présentant des comorbidités suivantes: maladie pulmonaire obstructive chronique, maladie rénale, diabète, l'alcoolisme et forte consommation de tabac (**Falagas M, et al 2007**).

La pneumonie communautaire acquise à *A baumannii* est fulminante, elle est associée à une bactériémie, syndrome de détresse respiratoire aiguë, coagulation intra vasculaire disséminée avec décès précoce. Le taux de mortalité des patients avec cette infection est élevée de 40 à 64%, ceci peut être expliqué par un grand nombre de facteurs de risque affectant les patients infectés, notamment l'âge moyen relativement élevé, ou le traitement empirique inapproprié (**Leung W et al 2006**).

#### **2.1.2 -La méningite communautaire acquise à *A baumannii***

La méningite communautaire acquise à *A baumannii* est très rare. Dans une étude comportant 1737 patients ayant acquis des méningites communautaires bactériennes, trois patients (0,2 %) avaient une méningite à *Acinetobacter spp*. Des faux diagnostics de méningites peuvent se produire, où la culture du LCR est positive pour *Acinetobacter* en absence des caractéristiques cliniques de la méningite (contamination de LCR par l'*Acinetobacter* présent dans le milieu hospitalier) (**Kim M et al 2009**).

## **2.2- infections nosocomiales**

L'*A.baumannii* a été reconnu depuis les années 1980 comme un agent responsable d'infections liées aux soins, et cette bactérie a un impact majeur grandissant en termes de santé publique vu la progression rapide des souches résistantes ainsi que l'acquisition continue de mécanismes additionnels de résistance.

L'*A.baumannii* a été impliqué dans les pneumonies associées à la ventilation mécanique, les bactériémies associées à des cathéters, les infections urinaires, les méningites suite à des dérivations du LCR et les infections post traumatiques.

Les infections nosocomiales en milieu pédiatrique sont moins fréquentes et sont généralement observées en unités de soins intensifs et les facteurs de risque dans ce cas sont similaires à ceux identifiés chez les adultes.

*A baumannii* peut infecter n'importe quel organe, sa responsabilité dans une infection est rendue difficile par sa capacité à coloniser les tissu, qu'ils soient sains ou infectés (**Blanchardière A et al 2009**).

### **2.2.1-Pneumonie nosocomiale**

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

On distingue les pneumopathies précoces (acquises avant le cinquième jour d'hospitalisation), le plus souvent dues aux germes commensaux des voies respiratoires supérieures des pneumopathies tardives (acquises après le cinquième jour d'hospitalisation) où les germes hospitaliers et multirésistants sont plus fréquemment identifiés (**Ziberberg MD et al, 2010**).

### **2.2.2-Septicémies**

Elles ont de multiples localisations initiales, avec au premier plan les pneumopathies, mais peuvent être aussi d'origine traumatique, chirurgicale, ou liées aux cathéters, aux dialyses péritonéales ou chez les grands brûlés. Les septicémies nosocomiales à *A baumannii* représentent les infections les plus graves. Leur pronostic est en fonction des pathologies sous-jacentes (**Guillou J et al 2005**).

### **2.2.3-Méningite nosocomiale**

La méningite nosocomiale survient pratiquement et de manière exclusive sous forme secondaire après un traumatisme crânio-cérébral ou après intervention neurochirurgicale.

La méningite nosocomiale à *A baumannii* pose un problème de prise en charge thérapeutique devant le faible nombre d'antibiotiques diffusant dans le liquide Céphalorachidien (**Krol V et al 2009**).

**CHAPITRE III :**  
***ACINETOBACTER BAUMANNII***  
**ET**  
**RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**

Le genre *Acinetobacter* représente aujourd'hui un modèle d'adaptation particulièrement efficace en termes d'antibiorésistance. En l'espace de 40 ans, *Acinetobacter* représenté par l'espèce *baumannii* est passé du statut de « bactérie sans grand intérêt en infectiologie » car peu pathogène et sensible à la plupart des antibiotiques commercialisés à cette époque, à celle de bactérie championne de la « multirésistance » aux antibiotiques parfois pionnière dans ce vaste domaine.

Sa capacité à disséminer dans l'environnement hospitalier, à acquérir rapidement des mécanismes de résistance conduisant parfois à des impasses thérapeutiques a fait d'*A.baumannii* une bactérie souvent redoutée des services de soins intensifs. La diversité des mécanismes de résistances développés par cette espèce est impressionnante :

- Enzymes d'inactivation.
- pompes à efflux, imperméabilité.
- modification de cibles.

Il en est de même pour les supports génétiques (mutations, acquisition de transposons, plasmides, intégrons, séquences d'insertion promotrices ....)

L'un des exemples les plus marquants est la diversité des enzymes conférant la résistance aux carbapénèmes. Ces résistances sont particulièrement préoccupantes puisque depuis les années 90, date de l'émergence des souches hyper productrices des céphalosporinases, les carbapénèmes représentent les antibiotiques de référence des infections à *Acinetobacter baumannii*.

L'apparition concomitante de la résistance aux fluoroquinolones et aux aminosides a donné à cette bactérie le statut de bactérie multirésistants ou BMR (**Revue Francophone Des Laboratoires – Avril 2012**).

## **1-Profil de la résistance naturelle**

*Acinetobacter* possède dans son génome un gène codant pour la production d'une bêta-lactamase de type céphalosporinase (**Bou G et al 2000**).

Plusieurs types de céphalosporinases ont été caractérisés chez *A.baumannii*. Elles sont appelées aujourd'hui ADC (*Acinetobacter-derived cephalosporinase*) et sont à l'origine de la résistance aux aminopénicillines, à céfalotine et la céfoxitine chez l'espèce *baumannii*. Cette enzyme n'est pas sensible aux inhibiteurs de bêta-lactamase comme l'acide clavulanique.

Elle possède aussi un gène codant pour l'enzyme oxacillinase chromosomique naturelle OXA-51, identifié comme ubiquitaire dans l'espèce *baumannii* et utilisé comme marqueur d'identification d'espèce (Chantal B. :2015).

*A. baumannii* est caractérisée par une certaine imperméabilité qui est associée à une pompe à efflux, naturellement active vis-à-vis d'un large spectre d'antibiotiques incluant notamment le chloramphénicol et le triméthoprime mais excluant les aminoglycosides. La présence de cette pompe explique les niveaux de CMI d'emblée élevés que l'on retrouve dans cette espèce vis-à-vis de nombreux antibiotiques (Damier L et al 2008).

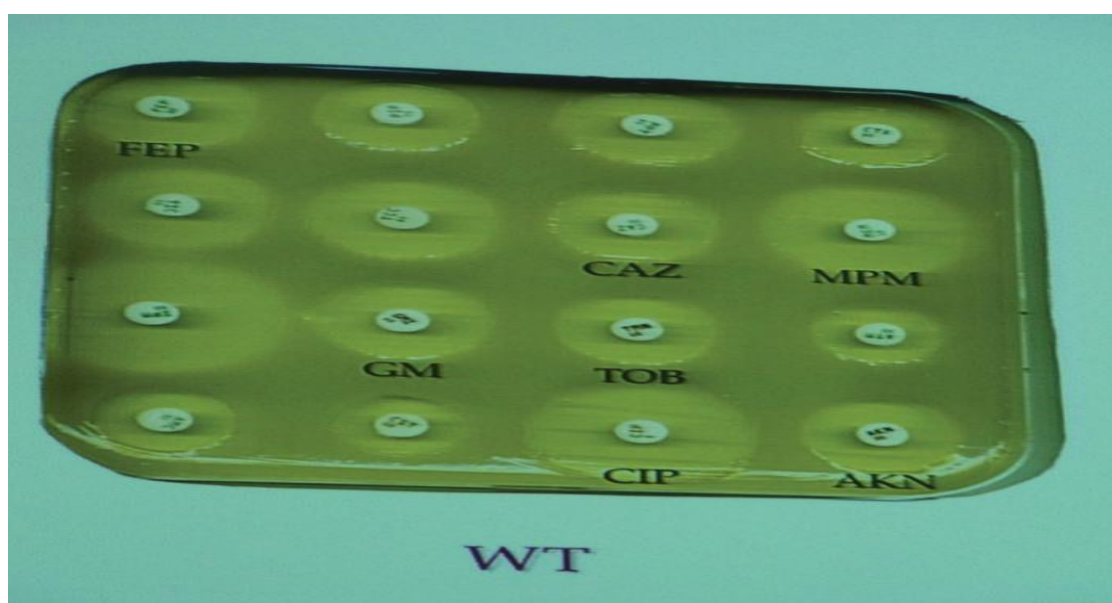


Figure 5 : *Acinetobacter baumannii* profil sauvage (Chantal B. :2015).

## 2-profil de la résistance acquise :

*A.baumannii* a su s'adapter au cours du temps pour devenir une bactérie redoutable par sa multirésistance aux antibiotiques.

### 2.1- la résistance acquise au bêta-lactamines

La résistance aux bêta-lactamines est dominée par la production de bêta-lactamases à la fois chromosomiques ou acquises. Le tableau 2 indique l'importante variété d'enzyme que cette bactérie peut produire. De façon inquiétante, on trouve parmi elles une grande diversité de gènes conférant la résistance aux carbapénèmes. A la diversité des enzymes produites, s'ajoute la diversité des supports génétiques .par exemple, le gène blaTEM92 a été localisé sur un transposon (Tn3-like) le gène blaCTX-M15 sur un plasmide et le gène blaVEB-1 sur un intégron (Endimiani A et al 2007-Naas T et al 2006).

<b>Classification de Ambler</b>	<b>Type d'enzyme</b>	<b>Specre d'activité</b>
<b>CLASSE A</b> (Serine bêtalactamase)	TEM-1,-2 ; CARB-5 SCO-1 CTX-M-2,-15 ; TEM-92 VEB-1, PER-1 ; SHV-12 GES-11 ; -14 KPC-2,-3,-4,-10	R pénicillines+ C1G* R toutes bêtalactamines sauf Céphamycineset carbapénèmes R carbapénèmes et CG3*R toutes les bêtalactamines
<b>CLASSE B</b> (Métallo-bêtalactamase)	IMP-1,-2,-4,-5,-6,-11 VIM-2,-4 ; SIM-1 ; NDM-2	R toutes les bêtalactamines Sauf aztreonam
<b>CLASSE C</b> (Sérine bêtalactamase)	Amp C + ISAbal	Pas d'expression, non inductible Expression amplifiée de niveau variable, R ampicillines, C1G, C2G* (bas niveau) R C3G, piperacilline + /ticarcilline (haut niveau)
<b>CLASSE D</b> (Sérine bêtalactamases)		
<b>Groupe I</b>	OXA-21 OXA-23,-27,-49	R ampi-ticar-piperacilline R toutes bêtalactamines carbapénèmes incluses
<b>Groupe II</b>	OXA-51,-66,-69	Pas d'activité apparente (sauf si ISAbal)
<b>Groupe III</b>	OXA-24,-25,-26,-37, -40,-72	R toutes bêtalactamines carbapénèmes incluses
<b>Groupe IV</b>	OXA-58 OXA-143	R toutes bêtalactamines carbapénèmes incluses R pénicillines +carbapénèmes

**Tableau 2 : les Beta-lactamases décrites chez *Acinetobacter baumannii* (revue francophone des laboratoires - avril 2012).**

### **2.1.1 -La résistance acquise aux pénicillines**

Dans les années 80, différentes pénicillinases plasmidiques ont été caractérisées chez *A. baumannii*. Il s'agit principalement de l'enzyme TEM-1, les autres types moins fréquents étant TEM-2, CARB-5 et SCO-1 (**Paul G et al 1989-Poirel L et al 2007**).

Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, pipéracilline) et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam. Une oxacillinase à spectre étroit (OXA-21), portée par un intégron et conférant un phénotype de pénicillinase, a été décrite en 1997 (**Vila J et al 1997**).

### **2.1.2-La résistance acquise aux céphalosporines**

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

La présence d'une séquence d'insertion IS<sub>Aba1</sub> en amont du gène bla ampC est à l'origine d'une surexpression du gène grâce au rôle de promoteur que joue cette séquence en s'insérant à quelques bases seulement du codon d'initiation du gène. Lorsque la céphalosporinase est surexprimée par ce système, la ceftazidime est inactivée comme l'ensemble des C3G (**Héritier C et al 2006**).

### **2.1.3 -La résistance acquise aux carbapénèmes**

La résistance aux carbapénèmes qui a longtemps été liée à l'association d'hyperproduction de céphalosporinase et d'imperméabilité apparue en 1986 et qui ne concernait qu'un nombre limité de souches a explosé au cours des dernières années. Des enzymes conférant la résistance acquise aux carbapénèmes ont été caractérisées dans les quatre classes moléculaires de bêta-lactamases.

Depuis, les 4 groupes d'oxacillinases ont été identifiés chez *A. baumannii* :

- Le sous-groupe 1 est représenté par les enzymes OXA-23 ou 23 « like ».
- Le sous-groupe 2 ou OXA-24 « like » présente les plus fortes activités enzymatiques.
- Le sous-groupe 3 ou OXA 51/69 « like » correspond à des enzymes produits à partir de gènes chromosomiques, naturellement peu contributifs à la résistance bactérienne sauf en cas de présence d'une séquence d'insertion en amont du gène (**Poirel L et al 2006-Figueiredo S et al 2009-Bogaerts P et al 2008- Naas T et al 2005**).



-Le groupe 4 ou OXA-58 « like », décrit depuis 2003, est retrouvé relativement fréquemment dans des souches épidémiques françaises et européennes (**Zarrilli R et al 2008- Poirel L et al 2005**).

Dans le groupe OXA-23 et OXA-58 « like », différentes séquences d'insertions présentes à l'extrémité 5' et ou 3' (comme ISAb1, ISAb3, ISAb3 ou IS18) régulent l'expression des enzymes.

-Enfin en plus de ces oxacillines l'enzyme chromosomique naturelle OXA-51 de l'espèce *baumannii* peut aussi conférer la résistance aux carbapénèmes lorsqu'ISAb1 s'insère juste en amont du gène (**Poirel L et al 2010- Turton JF et al 2006**).

Antibiotique	Sauvage	Pénicillinase	Céphalosporinase	Pénicillinase + céphalosporinase	Carbapénème R	BLSE
<b>Ampicilline</b>	S/I/R	R	R	R	R	R
<b>Amox + clavulanate</b>	S/I/R	S/I/R	R	R	R	R
<b>Ticarcilline</b>	S	R	S/I	R	R	R
<b>Ticar + clavulanate</b>	S	S/I/R	S/I	R	R	I/R
<b>Pipéracilline</b>	S	R	R	R	R	R
<b>Pipéra- tazobactam</b>	S	S/I/R	S/I	R	R	I/R
<b>Céfotaxime</b>	S	S	R	R	R	R
<b>Céftazidime</b>	S	S	I/R	R	R	R
<b>Céfépime</b>	S	S	I/R	I/R	R	R
<b>Imipénème</b>	S	S	S	S	I/R	S
<b>Meropenem</b>	S	S	S	S	I/R	S
<b>Aztreonam</b>	S/I	S/I	R	R	I/R	R

**Tableau 3 :** Phénotypes de résistance d'*Acinetobacter baumannii* vis-à-vis des bêta-lactamines (revue francophone des laboratoires - avril 2012).

## 2.2-la résistance acquise aux aminosides

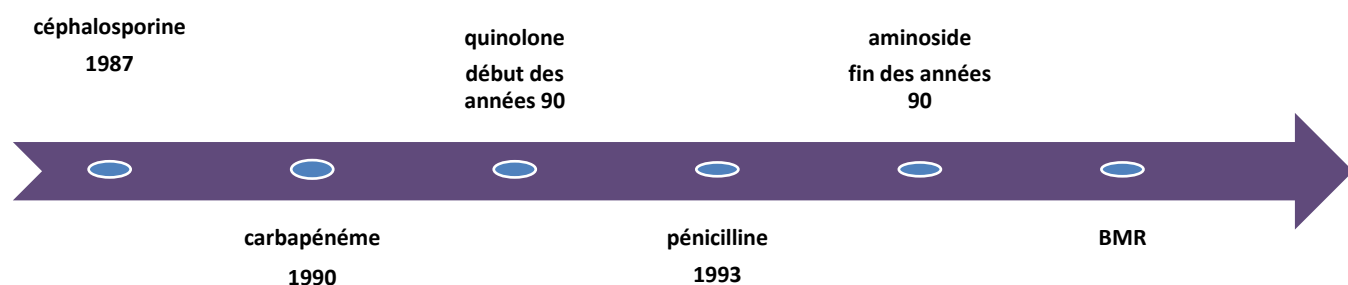
Comme chez les autres bacilles à Gram négatif, la résistance aux aminosides est essentiellement liée à la production des enzymes inactivatrices. Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides, des transposons ou des cassettes au sein d'intégrons, facilitant leur rapide dissémination (**Seward RJ et al 1998**).

Les *Acinetobacter* produisent fréquemment plusieurs enzymes parmi les acétylases, les adénylases et les phosphotransférases. En effet 75 % des souches produisent au moins deux types d'enzymes. Plus récemment, des méthylations de l'ARNr 16S par des méthylases, les ARNr 16S méthylases (ArmA et RmtA) ont été décrites chez des souches d'*A. baumannii* isolées à travers le monde.

Les gènes codant pour ces méthylases sont portés par un plasmide et sont associés au transposon Tn1548. Ce mécanisme confère une résistance de haut niveau à tous les aminoglycosides utilisés en thérapeutique. Enfin, la résistance aux aminosides est également associée à des mécanismes d'efflux impliquant des pompes (**Peleg A et al 2008 -Zhou Y et al 2010**).

## 2.3- La résistance acquise aux quinolones

La résistance aux fluoroquinolones est apparue suite à la généralisation du recours à ces antibiotiques en thérapeutique, et les mécanismes de résistances décrits sont liés à des mutations dans la cible des quinolones que sont les topo-isomérases de type II. Des systèmes d'efflux contribuent également à la résistance aux fluoroquinolones (**Damier L et al 2008, Cattoir V et al 2012**).



**Figure 6** (originale) : Chronologie de l'apparition des résistances chez *A. baumannii*.

### **3- *Acinetobacter baumannii* : de l'ère de la multirésistance à celle de la totorésistance (souches BMR BTR XDR)**

La prise en charge des infections à *Acinetobacter baumannii* est difficile en raison de sa capacité à acquérir la multirésistance, laissant seulement quelques antibiotiques à utiliser.

En effet *A.baumannii* combine l'acquisition de gènes de résistances et la surexpression de pompes d'efflux pour survivre dans les milieux hospitaliers (Coyne S et al ,2011).

La multirésistance aux antibiotiques est normalement définies comme la résistance aux agents antimicrobiens d'au moins trois classes différentes, cependant pour l'*A.baumannii* la multirésistance est définies par une résistance touchant la Ceftazidime et/ou l'imipénème avec une résistance touchant les autres familles d'antibiotiques notamment les Aminocyclitolides et les fluoroquinolones (Lee K et al, 2011).

Des souches **XDR** (Extensively-Drug Resistant bacteria) dont la sensibilité n'est conservée que pour une ou deux classes d'antibiotiques, la bactériémie et la pneumonie associée au ventilateur causée par **XDR *A.baumannii*** entraînent des taux de mortalité > 50% (Park YK et al 2009).

Une souche est dite pan résistante quand elle est résistante à presque tous les antibiotiques commercialisés y compris toutes les carbapénèmes, les Céphalosporines, l'Aztréonam, les Aminocyclitolides et la ciprofloxacine (Falagas M et al, 2008).

Des études rétrospectives multiples révèlent que c'est la résistance au carbapénèmes qui entraîne une mortalité remarquablement plus élevée pendant la bactériémie et la pneumonie causées par l'*A.baumannii*.

**CHAPITRE IV : DEPISTAGE DES SOUCHES**  
***ACINETOBACTER BAUMANNII***  
**RESISTANTS A L'IMIPENEME**

A la suite de la survenue de plusieurs cas d'infections ou de colonisations à *Acinetobacter baumannii* résistants à l'imipénème (ABRI), il est fortement recommandé d'avoir une stratégie de dépistage adaptée.

### 1-Pourquoi dépister ?

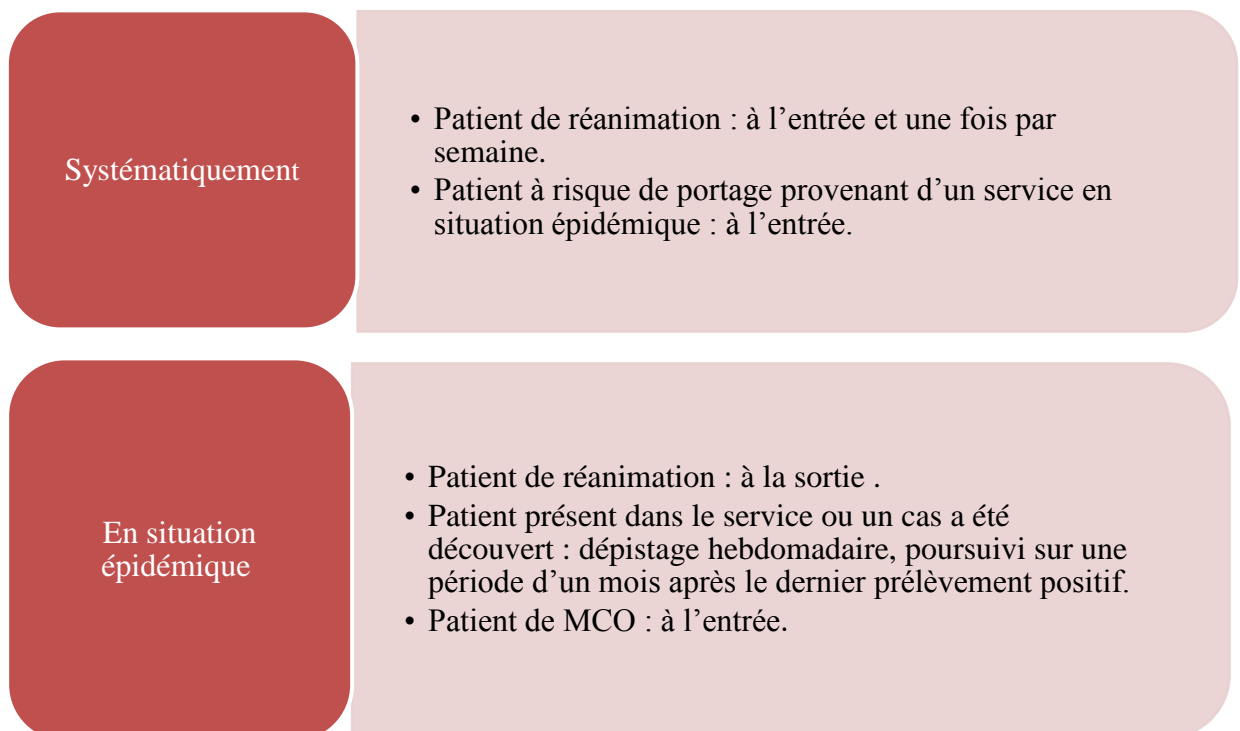
Les patients porteurs des ABRI constituent un réservoir au sein de l'unité de soins →Source de dissémination potentielle.

Plus le taux des ABRI est élevé, plus le risque d'acquisition d'une BMR est accru pour les nouveaux patients →pression de colonisation.

Identifier les réservoirs et mettre en place des précautions complémentaires de type contact.

Prévention de la diffusion (respect des mesures d'hygiène) et la prévention de l'émergence des résistances (du bon au moindre usage des ATB).

### 2-Qui et quand dépister ?



**Figure 7:** les patients concernés par le dépistage des ABRI (S Mechkour et al ;2009).

### **3-La démarche à faire avant le dépistage :**

- ✓ Validation des cas (infectés/colonisés, prélèvements), hospitalisations antérieures et circuits inter et intra établissements.
- ✓ Mise en place des mesures de dépistage des contacts (pharyngé et rectal).
- ✓ Evaluation des mesures d'hygiène complémentaires mises en œuvre.
- ✓ Mesures de suivi des cas : lever des précautions contacts et transfert des patients porteurs après 3 prélèvements négatifs à une semaine d'intervalle (**Jean Christophe 2011**).

### **4-Comment prélever ?**

-Prélèvement de gorge par écouvillonnage de la surface des amygdales, de la muqueuse pharyngée ou du voile du palais. À défaut faire une aspiration trachéale.

-Ecouvillonnage rectal à l'aide d'un écouvillon humidifié au sérum physiologique ou à l'eau stérile (écouvillon à une tige plastique). L'écouvillon doit être visuellement chargé de matière fécale. À défaut faire un prélèvement de selles.

Si le patient présente une stomie, faire un écouvillonnage au niveau de celle-ci.

### **5-Acheminement au laboratoire**

Acheminer rapidement les prélèvements à température ambiante (si le délai de prise en charge du prélèvement est inférieur à 24 h, il n'y a pas de problème de conservation).

## 6-Quelles techniques utiliser?

La technique	Par culture	Par technique de biologie moléculaire
<b>Le mode de travail</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sur milieu chromogène (milieu sélectif).</li> <li>• Avec ou sans phase d'enrichissement préalable.</li> <li>• Confirmation du mécanisme de résistance.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Directement à partir des prélèvements de dépistage.</li> <li>• Détection de gènes de résistance aux antibiotiques.</li> <li>• Certaines bactéries et résistances ciblées (laboratoires spécialisés).</li> <li>• Plateau technique de biologie moléculaire++.</li> </ul>
<b>Avantages et inconvénients</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Délai de rendu de résultats 48h à 72h.</li> <li>• Accessibles à tout laboratoire de biologie.</li> <li>• Qualité du prélèvement+++</li> <li>• Performance variable selon densité inoculum bactérien de l'échantillon.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Technique plus rapide (délai de rendu) +++.</li> <li>• Intérêt en situation épidémique.</li> <li>• Coûts directs plus importants (étude coût /bénéfice).</li> <li>• Pas de souche pour suivi épidémiologique.</li> </ul>

**Tableau 4 :** les techniques à utiliser pour faire le dépistage des ABRI (D.Descamps 2011).

### 7.1- Dépistage par culture en utilisant des milieux chromogènes

#### 7.1.1-l'utilisation du milieu chromogène GELOSE COLOREX ACINETOBACTER

La gélose Colorex Acinetobacter est un milieu chromogénique pour la détection d'Acinetobacter et d'Acinetobacter multirésistants (MDR), il se conserve à 2 - 8°C à l'obscurité sa date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

D'une façon générale, le protocole suivant peut être appliqué :

-Les échantillons appropriés peuvent être utilisés directement en isolement sur la boîte ou après un enrichissement.

- Si vos boîtes ont été réfrigérées, laisser les revenir à température ambiante avant inoculation.
- Isoler l'échantillon sur la boîte.
- Incuber à 37°C pendant 18-24 h en aérobie.

L'identification finale d'*Acinetobacter* nécessite des tests de confirmation additionnels comme des tests biochimiques et immunologiques. Le test d'agglutination Latex de confirmation peut être effectué directement à partir des colonies suspectes observées sur notre milieu (**J. Moran-Gilad et al 2014**).

### **7.1.2- l'utilisation du milieu chromogène CHROM agar TM *Acinetobacter***

Toute politique efficace de contrôle d'infection devrait inclure une surveillance des matières fécales. CHROM agar TM *Acinetobacter* est un outil spécialement conçu pour optimiser cette étape, en permettant la croissance des colonies en rouge intense, facilement repérables (**BD Logo et al : 2014**).

## **7.2- dépistage par technique de biologie moléculaire**

### **7.2.1-Dépistage par la détection d'une carbapénémase**

La détection d'une carbapénémase a été réalisée par le test de Hodge qui consiste à mettre en évidence l'hydrolyse de l'imipénème par la souche à tester à l'aide d'une souche indicatrice (*E. coli* 25922).

La différenciation des métallo- $\beta$ -lactamases (M  $\beta$ L) des autres  $\beta$ -lactamases hydrolysant les carbapénèmes a été effectuée par le test à l'EDTA qui consiste en la propriété de ces enzymes à être inhibées par cet agent chélateur (**Lee et al, 2003**).

### **7.2.2- Dépistage en utilisant la technique de PCR**

C'est une techniques rapides pas besoin de culture, La PCR est une technique bien établie qui amplifie, de façon sélective, certaines régions d'ADN génomique en fonction de la liaison d'amorces qui sont propres aux régions en question. La PCR quantitative (q PCR) ou PCR en temps réel est une méthode plus récente qui peut être utilisée pour déterminer le nombre de copies d'une séquence d'ADN (**Aboura, 2010**).

Le principe de la q PCR repose sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente grâce à l'émission d'un signal fluorescent, qui permet de déterminer précisément à chaque étape de la PCR, le nombre de copies de la séquence cible dans un échantillon. Cette



quantification se fait pendant la phase exponentielle d'amplification et est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés et donc à la quantité d'ADN de départ.

La PCR en temps réel (CFX96, C1000 cycleur thermique, Bio-Rad) et la PCR standard étaient effectuées pour détecter les  $\beta$ -lactamases de classe D : *bla* OXA-23, *bla* OXA-24, *bla* OXA-58,  $\beta$ -lactamase intrinsèque *bla* OXA-51, et la M $\beta$ L *bla* NDM-1 (Aboura, 2010).

## **8-Résultats**

Les résultats positifs sont transmis en 48 à 72h et les résultats négatifs sont transmis en 48 h.

Tout antibiogramme réalisé doit comporter la mention « antibiogramme rendu à titre épidémiologique » (S. Mechkour et al ,2009).

**CHAPITRE V : PLACE DE LA COLISTINE COMME  
TRAITEMENT ET RECOMMANDATIONS  
THERAPEUTIQUES DEVANT UNE INFECTION A  
*A.BAUMANNII***

# **1- la colistine, rempart thérapeutique dans l'ère de la totorésistance**

## **1.1-Historique :**

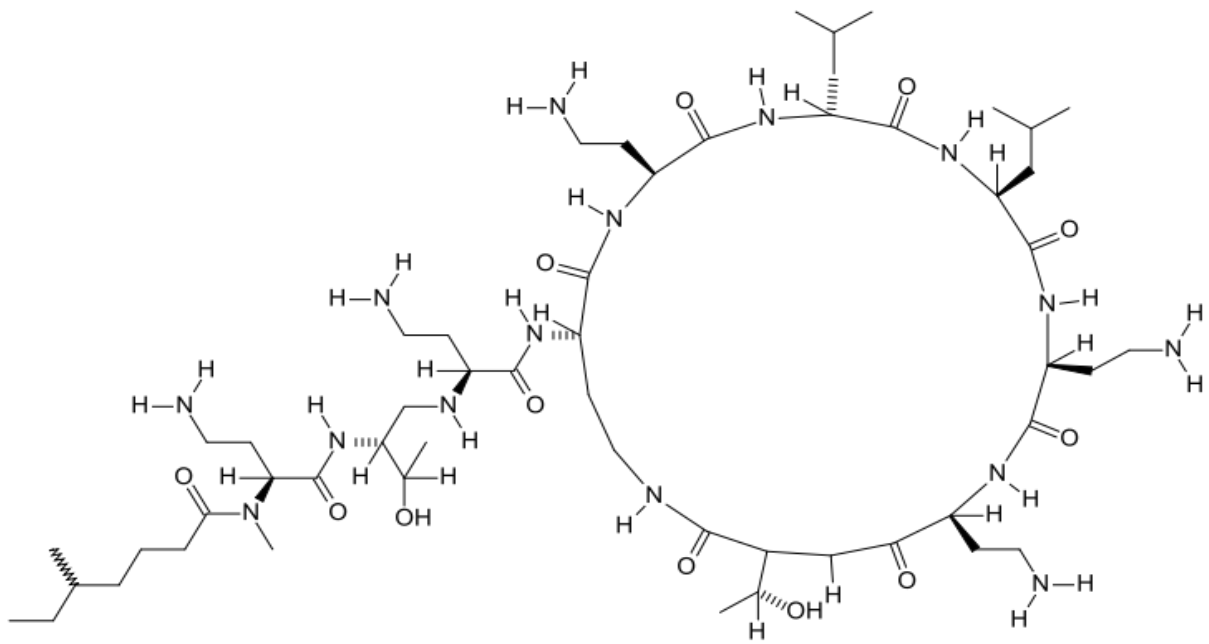
Découverte dans les années 1940 (**Benedict RG et al 1947**).la colistine a été un des premiers antibiotiques dotés d'une activité significative vis- à-vis des bactéries à Gram négatif (BGN). Après une large utilisation dans les années 1960, puis une chute en disgrâce dans les années 1970 du fait d'une réputation de neurotoxicité et de néphrotoxicité.

Elle connaît un regain d'intérêt dans les années 1980—1990 avec son utilisation croissante chez les patients atteints de mucoviscidose ayant des surinfections respiratoires récidivantes par des BGN de résistance croissante. Par extension, à la fin des années 1990, la colistine est « redécouverte » pour le traitement d'infections nosocomiales graves à BGN multirésistants, notamment en réanimation, sa toxicité est alors relativisée par rapport aux aminosides et à la gravité d'une infection non maîtrisable.

## **1.2- Structure et propriétés**

La colistine est constituée d'un décapeptide cyclique lié à un acide gras (Fig 8) faisant partie de la classe des polymyxines, des antibiotiques produits naturellement par certaines variantes de *Bacillus polymyxa*.

Au sein des polymyxines, subdivisées en dénominations A à E, la colistine a la désignation polymyxine E et se distingue uniquement par un acide aminé (D-phenylalanine au lieu de la D-leucine) de la polymyxine B, antibiotique apparenté et seule autre polymyxine utilisée chez l'homme (**Bergen PJ, 2006**).



**Figure 8:** Structure de la colistine (polymyxine E) (**Benedict R et al 1947**).

### 1.3-Pharmacocinétique :

La pharmacocinétique est la science qui étudie le devenir d'une substance active contenue dans un médicament après son administration dans l'organisme. Elle comprend, après la phase biopharmaceutique précédant le premier passage transmembranaire, quatre grandes étapes:

1. absorption (A)
2. distribution (D)
3. métabolisme (M)
4. excrétion du principe actif et de ses métabolites (E).

La pharmacocinétique de la colistine est mal connue. Les données montrent des divergences importantes en fonction de la population étudiée, des modalités d'administration et de la méthode de dosage utilisée.

.Le colistiméthate sodique est la prodrogue de la colistine, le colistiméthate sodique n'est pas absorbé par le tractus gastro-intestinal après administration orale. Après une injection intraveineuse, 60 à 70 % du colistiméthate sodique sont éliminés par le rein sous forme inchangée, le reste étant hydrolysé en colistine base et en dérivés sulfométhylés.

La clairance totale du colistiméthate sodique est de l'ordre de 2 à 4 ml/min/kg.

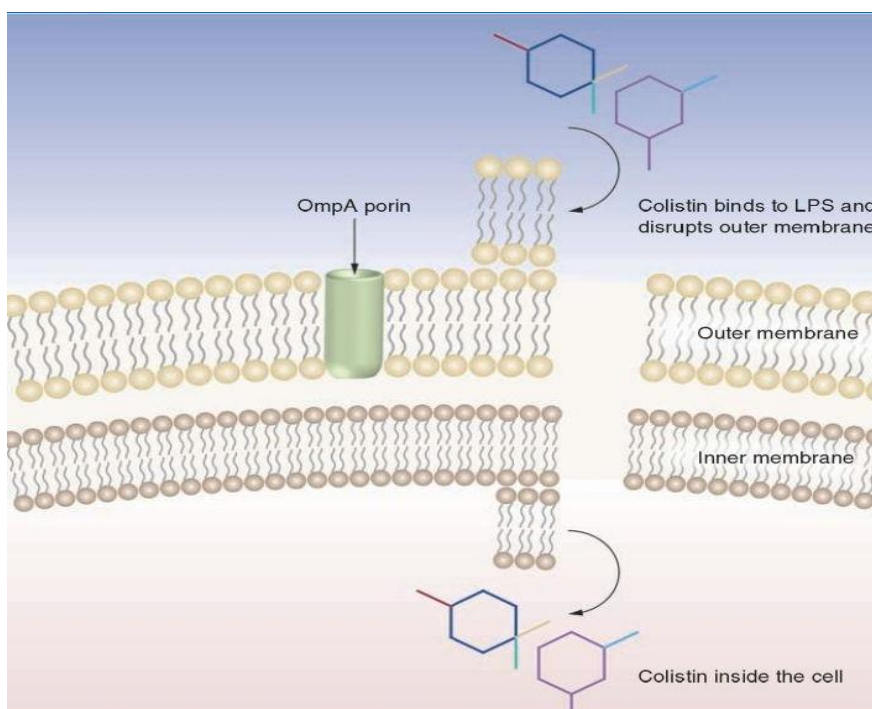
La colistine base est liée à 50 % aux protéines, elle ne diffuse pas dans le liquide céphalo-rachidien et passe difficilement les barrières oculaires, synoviales, fœto-placentaire et pleurales (**Karageorge D et al, 2008**).

#### 1.4-Mécanismes d'action

Les mécanismes d'action proposés de la colistine sont essentiellement fondés sur la similarité de structure avec la polymyxine B et donc issus d'études concernant celle-ci réalisées dans les années 1960 à 1985(**Dixon RA et al 1986**).

L'activité bactéricide des polymyxines en général serait due à l'interposition des polymyxines dans les membranes phospholipidiques entre les protéines membranaires et les phospholipides membranaires des BGN (**koike M et al 1969**).

La colistine atteint sa cible en s'interposant dans les ponts cationiques et les liaisons hydrophobes entre les phospholipides de la membrane externe, et particulièrement le LPS, permettant de franchir cette barrière et d'exercer l'effet surfactif sur la membrane cytoplasmique (**Littlewood J et al 2000**).



**Figure 9** : Mécanisme d'action de la colistine (**Littlewood J et al 2000**).

## 1.5-Détermination des sensibilités à la colistine :

L'évaluation microbiologique de la sensibilité des souches cliniques à la colistine est rendue difficile par le choix des formes utilisées pour tester la sensibilité in vitro. En effet, alors que c'est le CMS qui est utilisé en parentéral pour traiter des infections à BGN multi-résistants, sa quantité variable en fonction des préparations et son hydrolyse complexe en composés intermédiaires précédant sa transformation en colistine active rendent illusoire une interprétation de CMI.

La détermination des sensibilités des pathogènes à la colistine par la technique de diffusion des disques a toujours été remise en question du fait de la mauvaise diffusion des polymyxines dans les gels d'agarose (**Galani I et al, 2008**). De ce fait, les méthodes de référence pour la colistine sont la microdilution en milieu de culture ou d'agarose liquide (**Gales AC et al, 2001**).

La détermination des sensibilités, résistances et CMI par E-test semble fiable avec une bonne concordance entre E-test et méthodes de dilution pour *A. baumannii*, avec toutefois certaines études qui émettent des réserves, notamment lorsqu'il s'agit de souches comportant de hautes incidences de résistances à la colistine (**Galani I et al, 2008**).

## 1.6-Résistances

La colistine n'échappe pas aux phénomènes de résistance. Des particularités du mécanisme d'action des polymyxines découlent le fait que la majorité des mécanismes de résistance de classe décrits impliquent des modifications soit des protéines de la membrane bactérienne externe, du lipide A du LPS, ou de la stabilisation cationique de la paroi par le contenu en magnésium ou calcium (**Fernandez L et al 2009**).

## 1.7-Synergies

Plusieurs associations ont été rapportées comme étant synergiques, notamment l'association avec la rifampicine, cette synergie est élevée vis-à-vis d'*A. baumannii*.

En effet, il y a des études qui ont montré que les souches d'*A. baumannii* résistantes à la colistine, ont des sensibilités augmentées à des antibiotiques normalement inactifs ou peu actifs contre les souches sensibles (**Mendes R et al, 2008**).

Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que les souches résistantes à la colistine le sont par des modifications de la paroi qui les rendent possiblement sensibles à d'autres molécules (**Fernandez M et al 2009**).

Par ailleurs, il a été montré que l'association d'antibiotiques antagonistes prévient l'apparition de souches résistantes alors que les associations synergiques les favorisent car l'apparition de mutants résistants à l'un des antibiotiques du couple synergique casse la synergie et équivaut à une monothérapie peu active (**Torella J et al, 2010**).

### **1.8- Effets secondaires de la colistine**

La neurotoxicité, avec la néphrotoxicité, fait partie des classes d'effets indésirables les plus fréquents. L'incidence de la neurotoxicité atteignait 7 % principalement sous forme de paresthésies. Il y a aussi de divers effets indésirables liés à une neurotoxicité avec des incidences très inconstantes : vertiges, paresthésies, troubles visuels, confusion, et ataxie (**Koch-Weser J et al, 1970**).

## **2- Recommandations thérapeutique devant une infection à *A.baumannii***

Le traitement des infections causées par *A.baumannii* est de plus en plus compliqué et cause un dilemme en pratique hospitalière à cause de la résistance croissante aux antibiotiques utilisés en milieu hospitalier (**Correa A, 2014**).

### **2.1-Rôle des Carbapénèmes dans le traitement:**

Les Carbapénèmes restent les antibiotiques de référence des infections à *A.baumannii* (**Joly G et al, 2013**).

L'antibiothérapie doit idéalement inclure simultanément une Bêta-lactamine (Ticarcilline, C3G, IMP) et un Aminoglycoside lorsqu'il est actif pour une activité synergique et rapidement bactéricide afin de prévenir l'émergence de la résistance, mais quand les Aminoglycosides ne sont pas actifs l'association peut se faire avec une Fluoroquinolone (**Bergogne B et al, 2008**), (**Qureshi H et al, 2015**).

Il existe peu de différence d'activité entre les différentes molécules de Carbapénèmes (Imipénème, Méropénème et Doripénème) à l'exception de l'Ertapénème qui n'est pas actif sur le genre *Acinetobacter* (**Correa A, 2014**).

La Tigécycline, quant à elle, est un dérivé de la Minocycline qui a prouvé son efficacité sur *A.baumannii* in vitro lors de plusieurs études avec une CMI intéressante mais peu d'études ont exploré son activité in vivo car cet antibiotique est dans la majorité des cas utilisé en association avec d'autres molécules (**Sun Y et al, 2013**).

## 2.2- Place de la colistine

La colistine, de la classe des polymyxines, exerce un effet bactéricide par altération de la membrane cytoplasmique de la bactérie. Cet antibiotique, bien que responsable d'effets indésirables, présente un regain d'intérêt en thérapeutique suite à l'émergence de bactéries pathogènes résistantes aux traitements habituels. La résistance à la colistine reste rare parmi ces bactéries (**Adams et coll. 2009**). (**Qureshi ZA et al, 2015**), (**Philips M, 2015**).

La bonne sensibilité de ce germe in vitro à la colistine, sensiblement augmentée par l'association de la rifampicine a favorisé l'utilisation intraveineuse de ces antibiotiques in vivo (**Berlana D et al, 2005**).

Plusieurs études ont rapporté des résultats cliniques favorables avec l'utilisation de la colistine aérosol avec la colistine par voie intraveineuse ou d'autres agents antimicrobiens parentéraux pour la pneumonie nosocomiale causée par *A baumannii* multirésistants (**Berlana D et al, 2005**), (**Michalopoulos A et al, 2005**).

## 3-Nouveaux agents thérapeutiques

De nouvelles substances chimiques de synthèse, sont constamment découvertes ; le groupe le plus prometteur est celui des peptides :

**-Le rBPI2 et cécropine PI** : deux peptides cationiques antimicrobiens membranaire active ont été utilisés pour inhiber la croissance d' *A baumannii*, leur rôle est d'augmenter la perméabilité des protéines (bactéricide), le cécropine est un peptide antibactérien. L'application de ces agents dans le traitement des infections graves à *Acinetobacter* n'est pas encore bien définie (**Ferez F et al 2008**).

**-Le cécropine A melittine** : peptide hybride a été montré qu'il pourrait être une chimiothérapie alternative pour *Acinetobacter spp* résistant à la colistine (**Rodriguez H, 2006**).

**- La buforin II** : exerce une forte activité antimicrobienne, une amélioration du taux de survie, et enfin, réalise une réduction significative des endotoxines plasmatiques et les concentrations de cytokines. En outre, la synergie de la buforin II avec la rifampicine a été observée. Il semble que la buforin augmente la perméabilité membranaire facilitant ainsi la pénétration des solutés hydrophobes imperméables tels que la rifampicine (**Neonakis I, 2011**).





**CHAPITRE VII :**  
**PREVENTION**

## **1 -mesures préventives générales**

### **1.1- Gestion de l'antibiothérapie :**

L'utilisation des antibiotiques conduit au risque de sélection de germes résistants, puis de diffusion épidémique de ces germes par transmission croisée. Ce phénomène est particulièrement aigu et visible dans les secteurs de réanimation qui pourront jouer le rôle de plaque tournante, de diffusion épidémique de ces bactéries (**Gynes R, 1997**).

Il est donc habituellement recommandé que les unités de réanimation se dotent de protocoles thérapeutiques définissant la nature et la durée des antibiothérapies probabilistes initiales en fonction de l'écologie locale et définissent l'utilisation des antibiotiques à spectre plus étroit, après obtention des informations microbiologiques nécessaires.

La distinction entre colonisation et réelle infection mérite d'être établie au cas par cas afin de ne pas favoriser l'émergence de germes résistants par une antibiothérapie intempestive. (**Girou E, 2008**).

### **1.2-Mesures d'hygiène et d'organisation des soins :**

Les méthodes de prévention s'appuyant sur les précautions de barrière sont tout à fait adaptées à cette bactérie, comme l'utilisation de matériel à usage unique, le nettoyage fréquent de l'environnement du patient.

Une prévention efficace doit aussi tenir compte des données de surveillance au long cours, de la prédominance éventuelle d' *A baumannii* dans l'unité de réanimation et de sa résistance aux antibiotiques utilisés dans le service (**Bayuga S et al ,2002**).

**-Maîtrise du risque infectieux lié aux procédures invasives :** passe bien évidemment par la détermination et surtout le strict respect des protocoles déterminant le choix des matériels, l'asepsie de mise en place et d'entretien (**Girou E, 2008**).

**-L'isolement :** Le but de l'isolement en réanimation est essentiellement de s'opposer à la transmission croisée des germes, notamment les multirésistants, provenant d'un patient ou de son environnement (**Girou E, 2008**).

**-L'hygiène des mains :** L'efficacité préventive du lavage des mains est clairement démontrée en réanimation, et ce geste constitue la mesure de base nécessaire (**Clin-Paris, 2001**)

L'observance médiocre du personnel médical et non médical au lavage traditionnel des mains, constamment rapportée dans les études depuis 20 ans, a conduit à réexaminer les techniques proposées ainsi que leur faisabilité dans le contexte réel des activités de soins.

Il a alors été montré que le compte tenu de la charge en soins des personnels, une amélioration de l'observance ne pourrait être obtenue qu'en proposant une technique d'hygiène des mains plus simple, plus rapide et plus accessible au lit du malade : la friction hydro-alcoolique.

Cette technique présente par ailleurs l'avantage d'une meilleure efficacité et d'une meilleure tolérance cutanée que le lavage traditionnel des mains (**Girou E, 2005**).

Le port de gants non stériles aussi est particulièrement recommandé lors de la manipulation de toutes les sécrétions et liquides biologiques potentiellement infectieux (sang, selles, urines...). Ces gants à usage unique doivent être jetés après chaque geste contaminant et ne dispensent pas du lavage des mains (**Carlet A et al, 1998**).

Plusieurs études ont démontré qu'une désinfection du corps entier à base de la chlorhexidine permettrait une éradication complète de l'*A.baumannii* de la surface cutanée (**Francey et al 2000**).

## **2-Surveillance des bactéries multirésistantes :**

La surveillance des bactéries multirésistantes peut permettre de détecter l'apparition de cas groupés, d'infections ou d'épidémies. Toutefois, cet objectif oblige une surveillance en temps réel qui est associée à une charge de travail lourde au quotidien et donc pose des problèmes de faisabilité.

Ce qui explique qu'en pratique, c'est souvent le laboratoire de microbiologie qui alerte sur l'apparition de cas éventuellement groupés. Tous les services de réanimation ne présentent pas la même écologie en matière de BMR. Il est donc recommandé avant d'établir un programme de surveillance de ces bactéries, de déterminer celles qui sont les plus prévalentes dans le service pour éviter de surveiller des événements rares, donc peu rentables au regard de la charge du travail. Une fois le choix, il peut être intéressant d'organiser un dépistage des malades porteurs à l'admission et des acquisitions dans le service en incluant les colonisations et les infections (**Giamarellou H et al, 2008**).

### **3-Contrôle des épidémies à *A baumannii* :**

La gestion réussie d'une épidémie requière une coopération effective de tout le personnel concerné, l'éducation régulière et la révision fréquente des mesures de contrôle sont essentielles.

Quand la source ou le réservoir sont identifiés, l'épidémie sera contrôlée par l'éradication de ces derniers. Dans d'autre circonstances, différentes mesures peuvent être utilisées, comportant la fermeture de l'unité, cohorte des patients et du staff, hygiène stricte des mains, désinfection de l'environnement, transférer tous les patients colonisés ou infectés et contrôle de l'antibiothérapie.

Une surveillance des cultures obtenues à partir des patients, du personnel soignant et de l'environnement peut aider à identifier les sources potentielles de l'épidémie, et à suggérer des mesures de contrôle spécifiques.

L'utilisation de différentes méthodes de typage moléculaire peut aider à cerner les modes de transmission de l'*A baumannii* durant une épidémie, par la différenciation entre les souches sporadiques et les souches épidémiques (**Maragakis L et al, 2008**).

### **4-Vaccination :**

Le traitement des infections causées par *A baumannii* est devenu de plus en plus complexe en raison de l'émergence des souches hautement résistantes. Le développement d'un vaccin pour *A baumannii* est compliqué par le fait qu'aucune protection des antigènes bactériens n'a été identifiée et le nombre limité de facteurs de virulence qui ont été caractérisés.

Des cellules bactériennes inactivées et atténuées ont été utilisées pour le développement d'un certain nombre de vaccins en raison de leur capacité à stimuler les réponses immunitaires. En outre, des vaccins à base des cellules entières peuvent stimuler une réponse contre les antigènes multiples, ce qui peut être important pour assurer une protection contre une large gamme de souches d'une espèce bactérienne. McConnell et ses collègues ont démontré dans un modèle murin que la vaccination avec les cellules entières inactivées (CEI) peuvent représenter une stratégie viable pour la vaccination contre *A.baumannii* (**McConnell M et al, 2010**).

# **DEUXIEME PARTIE :**

# **PARTIE PRATIQUE**

## 1-Présentation de l'étude

Cette étude concernant l'espèce *A.baumannii* et sa multirésistance aux antibiotiques a été réalisée au niveau du laboratoire central du CHU Blida, unité Frantz Fanon.

Nous avons scindé l'étude sur 2 volets :

- Le premier volet, rétrospectif couvrant la période du 1er Janvier 2012 au 31 Décembre 2016(soit une durée de 5ans) ;
- Le second volet, prospectif s'étalant sur la période allant du 1er Janvier 2017 au 31 Avril 2017(soit une durée de 4 mois).

Notre étude a porté sur le profil d'antibiorésistance des souches *Acinetobacter baumannii* avec un intérêt particulier pour les souches pan résistants.

## 2-objectifs

Les objectifs que nous nous sommes fixés sont les suivants :

- Evaluer le taux d'isolement d'*Acinetobacter baumannii* au niveau du laboratoire.
- Evoluer sur les 5 ans d'étude le taux de résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux molécules suivantes :

\*Ceftazidime

\*Ciprofloxacine

\*Imipenème

Ainsi que l'évolution de ces taux sur les 5 ans d'étude.

- Déterminer le taux de production de BLSE par les souches *A.baumannii* recensées.
- Recenser les souches **ABRI** et décrire certains de leurs caractères épidémiologiques (Répartition par type de prélèvement et type de service).
- Définir la place de la colistine dans le traitement des infections à *A.baumannii* multirésistant.

En définitif les buts ultimes de notre travail sont d'ordre :

- ✓ Fondamentale : étude de l'antibiorésistance.
- ✓ Epidémiologique : étude de certains caractères épidémiologiques des souches résistantes à l'ensemble des molécules testées.

- ✓ Préventif : prévention de la dissémination des souches *A.baumannii* notamment les souches multirésistantes.
- ✓ Thérapeutique : avec description des possibilités thérapeutiques.

### **3-Matériels et Méthodes :**

Pour répondre à nos objectifs et mener à bien cette étude, nous avons suivi une méthodologie précise et nous avons utilisé un certain nombre de matériels biologiques et non biologiques dont voici la description.

#### **3.1-Matériels**

##### **3.1.1-Matériels non biologiques**

Représentés par :

- La verrerie, l'appareillage, les milieux de cultures, les réactifs (annexe 1).
- Les disques d'antibiotiques qui sont des disques de papiers buvards imprégnés d'une concentration bien définie d'antibiotique utilisés pour l'antibiogramme conditionnés dans des cartouches conservés dans des réfrigérateurs à +4 °C.
- Les bandelettes E-test.
- Les antibiotiques en poudre injectable (imipénème).

Nous avons par ailleurs eu à utiliser des outils tel que : Le logiciel WHONET 5.6.

Le WHONET est un logiciel élaboré pour la gestion et l'exploitation des résultats d'analyses microbiologiques au laboratoire ; il se focalise principalement sur les résultats des tests de sensibilité aux antimicrobiens et a été adapté pour appuyer la mise en œuvre du Système mondial de surveillance de la résistance aux antimicrobiens.

Ce logiciel permet :

- La saisie des données de l'information clinique et microbiologique sur les sites de surveillance.
- Exportation des statistiques dans le format requis pour la production de rapports locaux et nationaux.
- Analyse des résultats de laboratoire incluant les listings de ligne souche, les tests statistiques de la sensibilité aux antimicrobiens, des études de profils de résistance aux antibiotiques, et la détection d'épidémie à l'hôpital et en communauté.

-Lignes directrices intégrées d'interprétation de test de sensibilité pour la plupart des méthodes d'essai normalisées.

-Formats de structures de fichier de données simples et de sortie compatibles avec la base de données principales, un tableur, un logiciel statistique et traitement de texte.

-Le logiciel est multilingue et est disponible dans plus de 20 langues.

Il est à savoir que le laboratoire central du CHU est Blida est doté de ce logiciel de ce fait de son appartenance au réseau algérien de surveillance de l'antibiorésistance dont on peut consulter le site sur [www.aarn.dz](http://www.aarn.dz).

### **3.1.2-Matériels biologiques**

Il est représenté par les prélèvements biologiques reçus ainsi que des souches bactériennes de contrôle de qualité utilisées.

#### **3.1.2.1-les prélèvements :**

Les urines, les cathéters, les pus, les hémocultures, et les liquides céphalo-rachidiens constituent les prélèvements les plus fréquemment à l'origine de l'isolement d'*Acinetobacter baumannii*.

Il peut également être isolé à partir de prélèvement de gorge, des fosses nasales, du nasopharynx et des voies génitales. Ces prélèvements sont issus de malades externes et internes (hospitalisés).

Les prélèvements doivent obéir à des règles strictes d'asepsie, leur réalisation se fait avant toute antibiothérapie (tableau 2).

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement (annexe 2) sur laquelle sont mentionnées les informations de chaque malade (Nom, Prénom, Age, Sexe, Service d'hospitalisation, Traitement antibiotique en cours).

Les méthodes de réalisation et les conditions de transport des prélèvements sont représentées dans le tableau ci-après :



Type de prélèvement	Méthode de réalisation	Condition de transport
<b>Urine</b>	Urine fraîche du matin dans des flacons stériles, en éliminant le premier jet	Immédiatement après leurs réalisations, ou le transporter à +4 °C
<b>Pus, gorge</b>	Ecouvillonnage à partir du foyer infectieux	Immédiatement après leurs réalisations.
<b>Hémoculture</b>	Ponction de sang veineux ; trois prélèvements sont réalisés avec intervalle et si possible au moment d'un pic d'hyperthermie ou d'hypothermie. Le sang prélevé est mis dans des flacons spéciaux.	
<b>LCR</b>	Ponction lombaire	

**Tableau 5:** Méthode de réalisation et les conditions de transport des prélèvements.

### 3.1.2.2-Les souches de contrôle de qualité

Ces souches sont utilisées afin de valider les différents tests de la résistance aux antibiotiques effectués. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 est la souche de référence pour contrôler les tests concernant l'*A.baumannii*.

## 3.2-Méthode :

### 3.2.1-Protocole à suivre

- Analyse des prélèvements.
- Isolement des souches.
- Identification du genre et de l'espèce.
- Etude de la sensibilité aux antibiotiques selon les normes nationales en vigueur avec recherche de la BLSE et détermination des CMI à l'imipénème par technique de dilution en

milieu gélosé pour les souches isolées pendant notre période de stage et revenues résistantes à l'ensemble des antibiotiques.

-Collecte et analyse des données (Le recueil des informations et des données s'est effectuées par consultation des registres du laboratoire et l'exploitation de la base de données du logiciel Whonet 5.6).

Suite au recueil des données nous avons effectué une analyse statistique par le logiciel Excel.

### **3.2.2-Les critères d'inclusion :**

Ont été inclus l'ensemble des souches *Acinetobacter baumannii* quelque soit le type de prélèvement ou le service de provenance

Vous trouverez ci après plus de précision sur les techniques employées :

- ECB des prélèvements
- Identification bactérienne
- Etude de la résistance aux antibiotiques ;
  - \*Antibiogramme
  - \*CMI à l'imipenème
  - \*Recherche de BLSE.

## **3.3-Analyse des prélèvements**

Il s'agit de l'examen cyto bactériologique (ECB) selon les techniques usuelles de laboratoires.

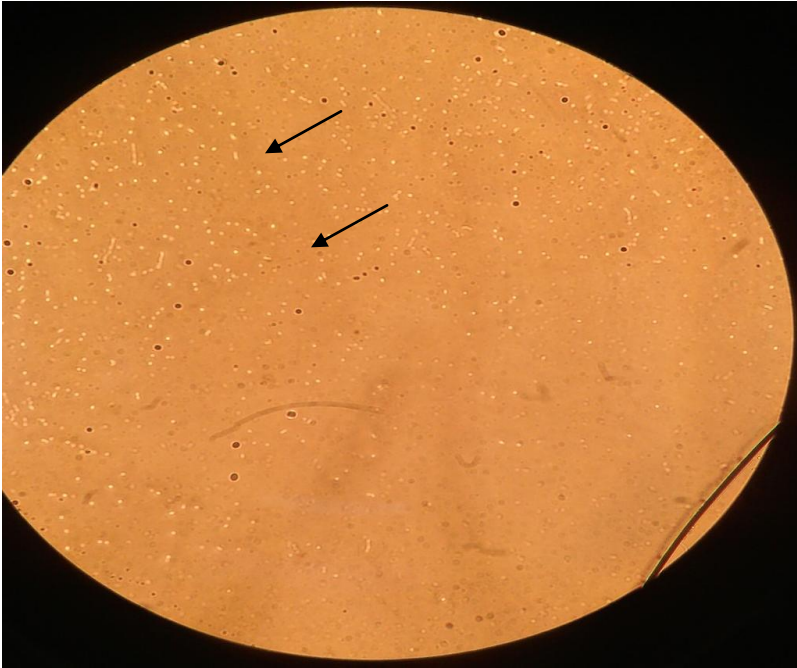
### **3.3.1-Examen microscopique**

#### **3.3.1.1Examen direct à l'état frais**

Il nous oriente sur la morphologie, la mobilité des bactéries vivantes ainsi que sur différentes numérations (polynucléaires, hématies, bactéries, les cristaux, et d'autres cellules...)

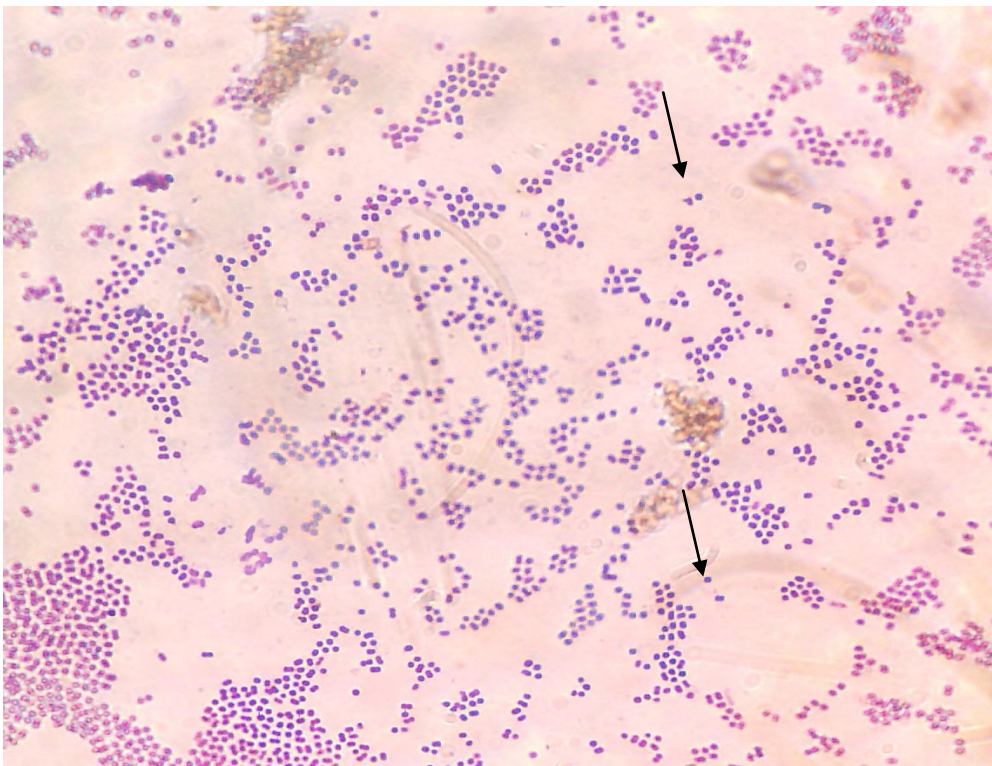
Les *Acinetobacter baumannii* apparaissent sur les lames de produits pathologiques à l'état frais comme coccobacille parfois entourés de capsule, non sporulés et immobiles.

En culture, l'aspect bacillaire est habituellement plus marqué à partir de milieux liquides.



**Figure 10** (photo originale) : aspect microscopique d'*Acinetobacter baumannii* à l'état frais. Les flèches indiquent les cellules individualisées d'*Acinetobacter baumannii* ( $\times 40$ )

**3.3.1.2-Examen microscopique à la coloration de Gram :** Après coloration de Gram *Acinetobacter baumannii* apparaît sous l'aspect de bacilles ou coccobacilles Gram négatif à variable.



**Figure 11**(photo originale) : Observation d'*A.baumannii* au microscope optique après coloration de Gram, les flèches indiquent les cellules individualisées d'*A. baumannii* ( $\times 100$ ).

### 3.3.2-La mise en culture des prélèvements et l'isolement des souches *A. baumannii*

L'examen cytot bactériologique des différents prélèvements a été fait selon les techniques usuelles et les recommandations du REMIC 2015 ; l'isolement des colonies suspectes s'est fait sur milieu de culture approprié (gélose nutritive et gélose au sang cuit) ;

Les colonies apparaissent sous l'aspect arrondies, lisses bords réguliers, de 2-3 mm de diamètre, parfois muqueuses.



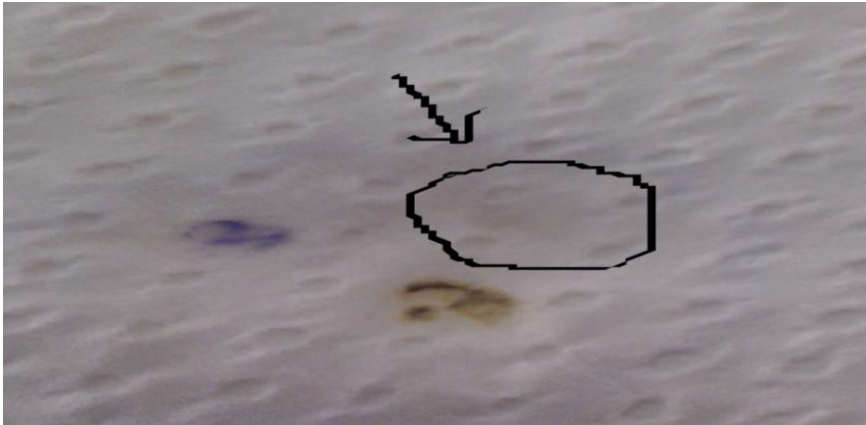
**Figure 12** (photo originale) : Observation macroscopique d'une culture de souche *Acinetobacter baumannii* sur milieu GN

Il est en générale aisé d'identifier un bacille à gram négatif coccoïde au niveau du genre *Acinetobacter* par le cumul des caractères aérobies strict, l'absence de nitrate réductase, la réaction à l'oxydase négative, l'absence de mobilité.

Par contre L'identification des diverses espèces est difficile. En pratique l'identification repose sur les galeries d'identifications commercialisés (API 20 NE® ou API 20E) ces procédés ne suffisent pas pour le diagnostic exact de l'espèce.

### 3.3.2.1-Oxydase :

Le test à l'oxydase se révèle être négatif.



**Figure 13** (photo originale) : Le test à l'oxydase.

### 3.3.2.2-Catalase :

Le test de catalase est positif pour *Acinetobacter baumannii*.



**Figure 14** (photo originale): test à la catalase.

### 3.3.2.3-Résultat de la lecture du test d'ONPG :

La bactérie a hydrolysé l'ONPG en ONP (produit coloré jaune). La bactérie possède la  $\beta$ -galactosidase elle est dite ONPG +.



**Figure 15** (photo originale) : Résultat de la lecture du test d'ONPG.

### 3.3.2.4-Résultats de la lecture du milieu mannitol mobilité :

La bactérie ne fermente pas le mannitol elle est dite mannitol -.

Ya la culture uniquement au niveau de la piqûre centrale donc n'y a pas de déplacement des bactéries dans le milieu, les bactéries sont immobiles.



**Figure 16** (photo originale): Résultats de la lecture du milieu mannitol mobilité.

### 3.3.2.5-Résultats de la lecture du milieu citrate de Simmons :

La bactérie utilise le citrate comme seule source de carbone sans alcalinisation du milieu La bactérie possède une citrate perméase, elle est dite citrate +.



Figure 17 (photo originale): Résultat de la lecture du milieu citrate de Simmons.

### 3.3.2.6-La galerie Api 20 NE :

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux, combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données.



Figure 18(photo originale) : galerie Api 20 NE.

### 3.3.2.7-La galerie Api 20 E

Tests	OX	CAT	GLU	LAC	ARA	SOR	CIT	LDC	ODC	GEL	URE	Gamma GT
Résultats	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-

**Tableau 6:** Résultats de la galerie API 20 E.



**Figure 19** (photo originale) : galerie Api 20 E.

## 3.4-L'étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les normes du CLSI

### 3.4.1-Antibiogramme

- Le milieu à utiliser c'est le milieu gélose Mueller Hinton
- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi
- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.
- La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10ème.



-les étapes de l'ensemencement :

\* Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

\* L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

\*Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

\*Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

\*Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Ensuite on applique les disques d'antibiotiques :

\*Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.

\*Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

On le laisse incuber 18 heures à 35°C, atmosphère ordinaire.

La lecture se fait après 18 heures :

-On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.

- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
<b>Ticarcilline</b>	75 µg	14	15 – 19	20	128	32-64	16	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE.
<b>Ticarcilline + ac.clavulanique</b>	75/10µg	14	15 – 19	20	128/2	32/2-64/2	16/2	
<b>Pipéracilline</b>	100 µg	17	18 – 20	21	128	32-64	16	
<b>Céftazidime</b>	30 µg	14	15 – 17	18	32	16	8	
<b>Imipénème</b>	10 µg	13	14 – 15	16	16	8	4	
<b>Amikacine</b>	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16	
<b>Gentamicine</b>	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	
<b>Tobramycine</b>	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	
<b>Nétilmicine</b>	CMI	----	-----	-----	32	16	8	
<b>Ciprofloxacine</b>	5µg	15	16 – 20	21	4	2	1	
<b>Lévofloxacine</b>	5µg	13	14 – 16	17	8	4	2	
<b>Doxycycline</b>	30µg	9	10 – 12	13	16	8	4	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour Tétracycline
<b>Triméthoprime+Sulfaméthoxaze</b>	1.25/23.75µg	10	11 – 15	16	4/76	-----	2/38	
<b>Colistine</b>	-----	-----	-----	-----	> 2		2	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut

								déterminer la CMI.
<b>Rifampicine**</b>	30µg	14	14 – 18	19	> 16	16-8	4	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>ème</sup>

**Tableau 7 :** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter spp.*

Pour chaque espèce bactérienne testée, un contrôle de qualité est réalisé dans les mêmes conditions de test et d'incubation.

Rappelons-nous que le contrôle de qualité permet de garantir :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité.
- La performance des réactifs utilisés dans les tests.
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.

Afin de se conformer à ces exigences, la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 peut être utilisée :

- Le contrôle de qualité doit se faire à chaque nouveau lot de Mueller-Hinton et ou d'antibiotiques. Ce travail de contrôle doit être permanent.

Il est conseillé de désigner dans chaque laboratoire une personne chargée de la supervision du contrôle de qualité.

Une traçabilité des disques antibiotiques doit être réalisée à l'aide des numéros de lots.

- La souche de référence devant être obligatoirement testée est :

*P. aeruginosa* ATCC 27853

- Une fois par semaine, cette souche sera testée, dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites pour les bactéries isolées.

Toutefois d'autres souches peuvent être intégrées dans le système de contrôle, leur choix est laissé à l'appréciation du microbiologiste et doit tenir compte du type d'antibiogramme pratiqué.

- Faire une analyse mensuelle (analyse pouvant être faite par le logiciel Whonet), de l'ensemble des tests de contrôle de qualité, par molécule et par technicien. Si les résultats ne sont pas satisfaisants, il faudra contrôler chacun des paramètres suivants :

- La lecture et l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition

- Le milieu de culture

- L'inoculum

- Les disques d'antibiotiques

- Les souches de référence.

- Le contrôle de qualité doit être pratiqué par tous les techniciens et jamais par un seul.

La lecture de l'antibiogramme doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

Elle doit être précise :

\*Pour éviter au maximum les erreurs de parallaxe en maintenant l'instrument de mesure perpendiculairement à l'axe optique.

\*Pour les MH simples la lecture se fait à l'extérieur de la boîte.

- Il faut vérifier que les interprétations (S, I, R) correspondent bien aux diamètres mesurés.

- Les mesures des diamètres d'inhibition seront soigneusement prises, et comparées aux valeurs critiques.

- Il faut éviter les confusions entre les différentes tables de lecture.

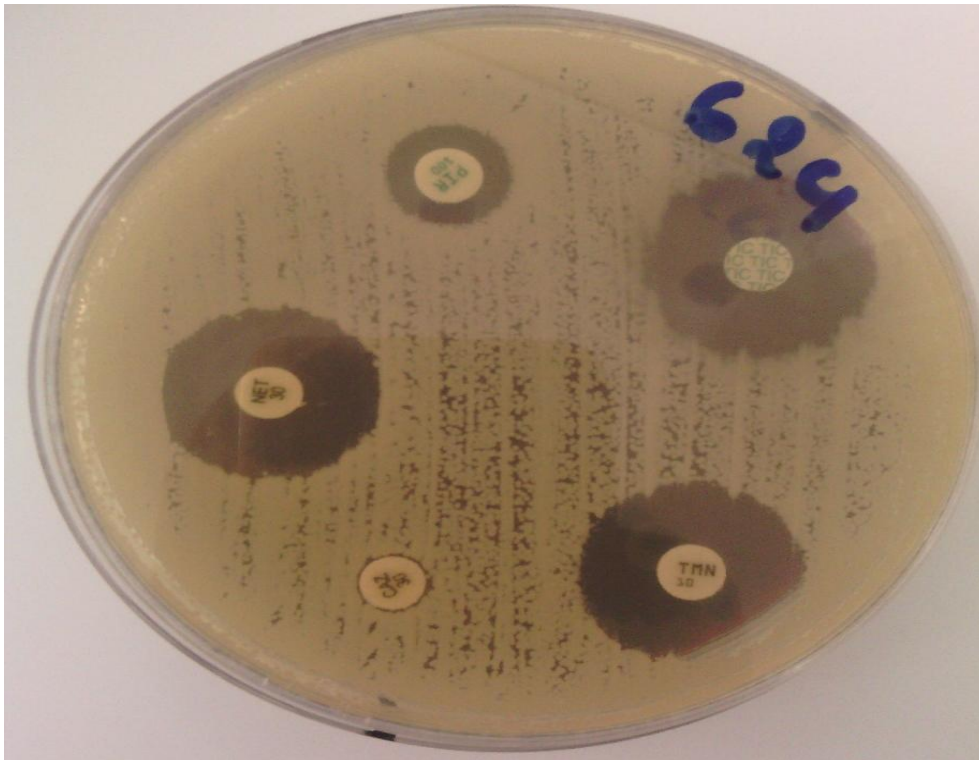
- Les deux causes principales d'erreur sont : mauvais ensemencement (stries non serrées) et mauvaise mesure des diamètres.

Microorganismes	Souche de référence ATCC
<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853

**Tableau 8 :** Souches de contrôle de qualité de l'antibiogramme.



**Figure 20:**(photo originale) Résultat d'antibiogramme d'*A.baumannii*.



**Figure 21** (photo originale) Résultat d'antibiogramme d'*Acinetobacter baumannii*.

### 3.4.2--Recherche de la BLSE

Les BLSE désignent des enzymes produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* Entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactames (aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème).

Selon les recommandations du CLSI (M100-S21), la recherche de la BLSE pour l'interprétation de la sensibilité d'*Acinetobacter spp.* aux céphalosporines n'est plus obligatoire.

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

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

- Ceftazidime (CAZ a22mm),
- Aztréonam (ATM a 27mm).

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Amler) sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

Pour *Acinetobacter.spp* la détection est plus difficile en raison d'association avec d'autres mécanismes de résistance tels : hyperproduction de céphalosporinase.

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10µg) à 30mm (centre à centre) d'un disque de C3G : ceftazidime (CAZ 30µg), aztréonam (ATM 30 µg), céfépime (FEP 30 µg).

On laisse Incuber 18 H à 35 °C.

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou « bouchon de champagne » entre les disques :

- TCC et CAZ
- TCC et ATM
- TCC et FEP

S'il y a absence de synergie, on peut rechercher la BLSE par :

\* Le rapprochement des disques TCC et CAZ (15mm et 20mm centre à centre) au lieu de 30mm.

\* La neutralisation de la Case : Si la souche est productrice d'une Case hyper produite, faire le test de synergie sur Mueller-Hinton additionné (de 250mg/l à 500 mg/l) de cloxaciline.

### **3.4.3-Détermination de la CMI**

#### **3.4.3.1-Technique de dilution en gélose :**

-Milieu de culture utiliser est le milieu Mueller-Hinton en gélose.

-Il est liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.

\*Préparation des boîtes de dilutions d'antibiotique

-Peser 51,20 mg de poudre titrée d'antibiotique. Diluer dans le volume de solvant approprié pour obtenir une concentration stock de 5120 µg/ml (solution-mère).

-Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison 2 (de demi en demi), dans le solvant approprié, jusqu'à la concentration finale de 1,25 µg/ml.

-Répartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique, dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Ne pas changer de pipette.

-Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires. La dilution obtenue (1/10ème) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.

-Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume d'eau physiologique stérile.

-Après solidification, sécher les boîtes, couvercle en place, pendant 30 mn.

#### \*Préparation de l'inoculum bactérien

-Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF, ce qui correspond à 1-2.10<sup>8</sup> CFU/ml en moyenne. Utiliser l'eau physiologique (eau  $\emptyset$ ) à 0,9% pour la préparation de la suspension directe à partir d'une culture jeune de la bactérie à tester.

-Déposer sous forme de spots à la surface de la gélose, 10<sup>4</sup> CFU/ml par spots de 5 à 8 mm.

-Si on utilise un applicateur de 2µl par spot, diluer l'inoculum au 1/10ème en eau physiologique.

-Si on utilise un applicateur de 0,1 à 0,2µl par spot, ne pas diluer l'inoculum de départ (0,5 MF).

#### \*Dépôt des spots bactériens

-Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.

-Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot.

-Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant une anse calibrée ou une pipette automatique à cône stérile.

-Commencer par la boîte témoin, puis déposer les spots sur les différentes boîtes en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Terminer en appliquant les spots sur une 2ème boîte témoin.

-Etaler une goutte de chaque souche testée, sur une gélose non sélective et incubé une nuit (détection des cultures mixtes, obtention d'une culture jeune).

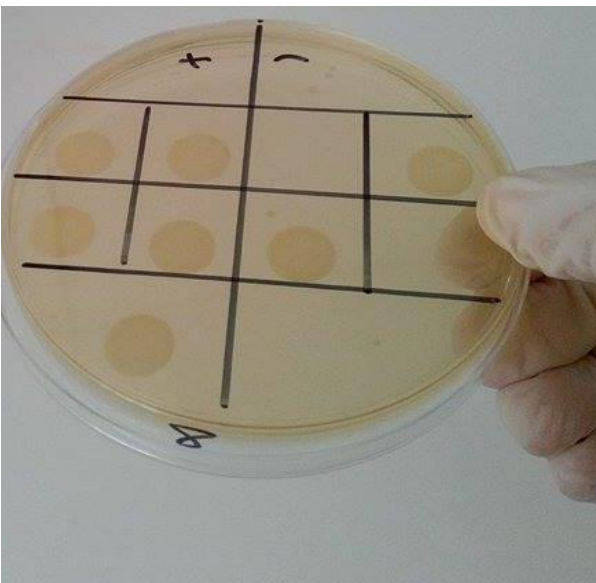
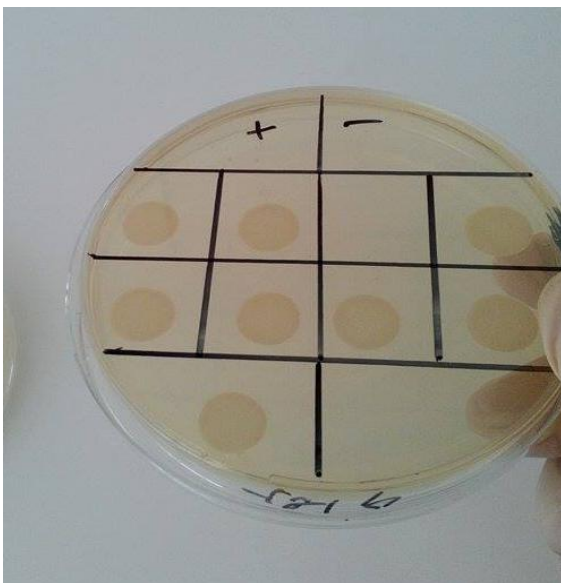
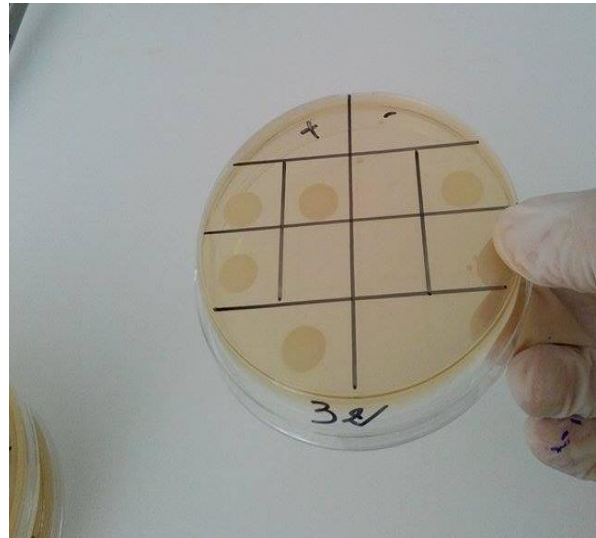
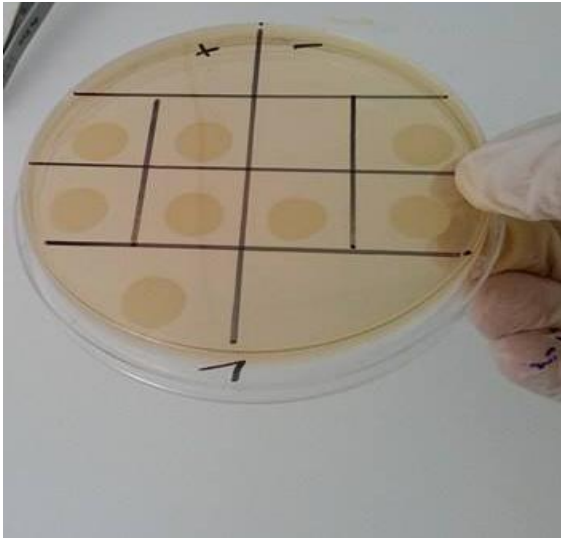


\*Incubation

- Laisser les boîtes à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn).
- Renverser les boîtes et incuber à  $35^{\circ}\text{C}\pm 2$  pendant 16-20 heures.
- Ne pas incuber en atmosphère à forte concentration de  $\text{CO}_2$  si cela n'est pas recommandé (le  $\text{CO}_2$  perturbe le pH du milieu).

\*Lecture des CMI

- Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive.
- Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible).
- Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.



**Figure 22** (photos originales) : la lecture des CMI par la technique de dilution en gélose.

### 3.4.3.2-Technique de l'E-Test

C'est une technique de détermination de la CMI, validée pour les bactéries non exigeantes et pour un certain nombre de bactéries exigeantes.

-Milieu de culture utiliser est le milieu Mueller-Hinton en gélose.

- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm

- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

\*Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. Ajuster le plus précisément possible. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

\*Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

- Ensemencer dans les mêmes conditions la (ou les) souches de référence.

\*Dépôt de la bandelette E-test :

- Prélever la bandelette à l'aide de pinces bactériologiques préalablement flambées au bec Bunsen ; le contact avec les pinces doit se faire au niveau de l'extrémité marquée E ; à noter

que l'utilisation d'un applicateur (à commander auprès du fournisseur de bandelettes Etest) est recommandée.

- Déposer la bandelette délicatement sur la surface gélosée, en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique testé puis en progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées. Eviter la formation de bulles d'air entre la gélose et la bandelette, une fois appliquée la bandelette ne peut être déplacée.

- A noter que l'on ne peut déposer qu'une ou deux bandelettes E-test au maximum par boîte de 90 mm de  $\varnothing$  (risque de chevauchement des ellipses avec plus d'une bandelette).

- Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 mn au plus.

- Incuber la boîte à 37 °C, atmosphère ambiante.

\*Lecture et interprétation :

- La CMI de l'antibiotique testé est lue à l'œil nu, boîte ouverte et bien éclairée.

- Elle correspond à la graduation, située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test.

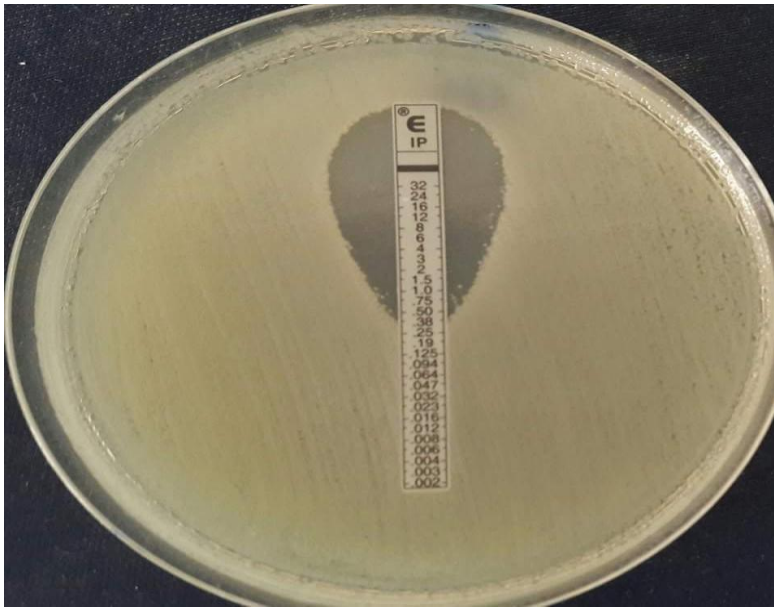
- Contrôler la qualité du test par la CMI de la souche de référence. Se référer au tableau de lecture fourni au niveau du prospectus E-Test.

- Lire ensuite la CMI de la souche bactérienne testée.

- Se référer aux recommandations du fournisseur pour l'interprétation de cas ambigus (double zone).

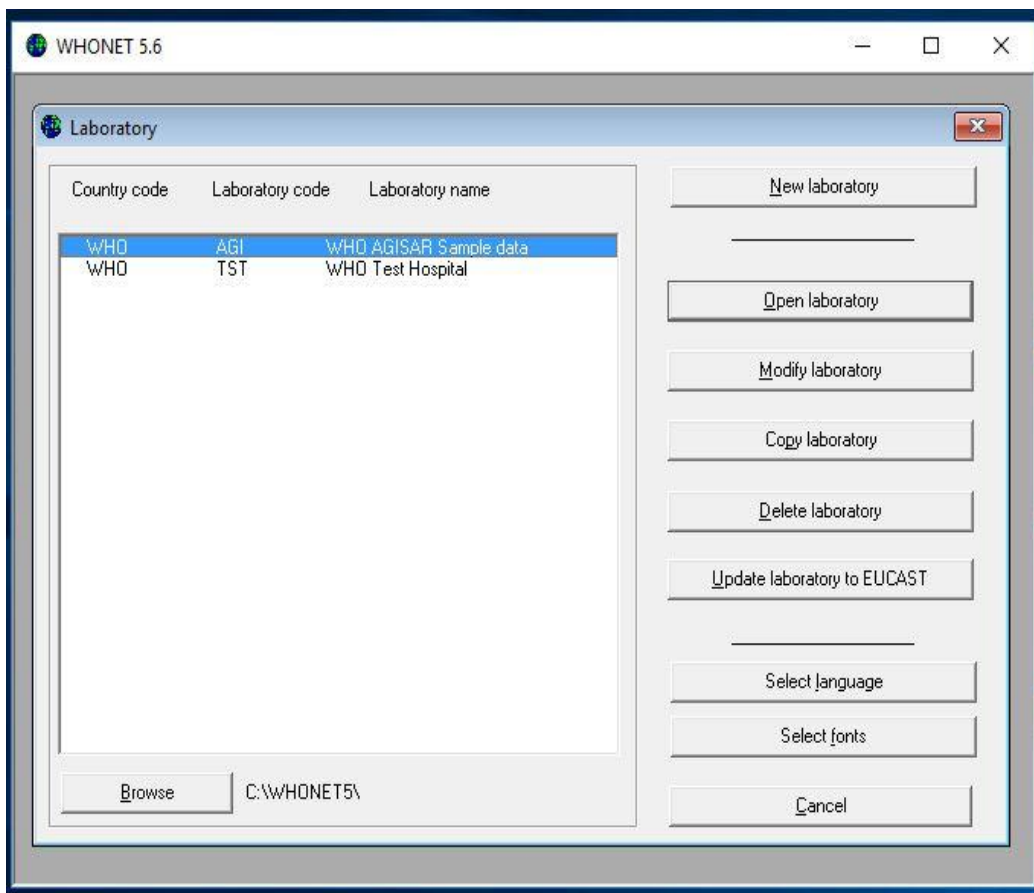
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.




**Figure 23** (photo originale) : Zone d'inhibition d'une bandelette à CMI pour une souche *Acinetobacter baumannii*.

**4-Collecte et analyse des résultats** : grâce au logiciel whonet 5.6 Whonet 5.6 excel.



**Figure24** (photo originale) : Capture d'écran du logiciel Whonet 5.6.

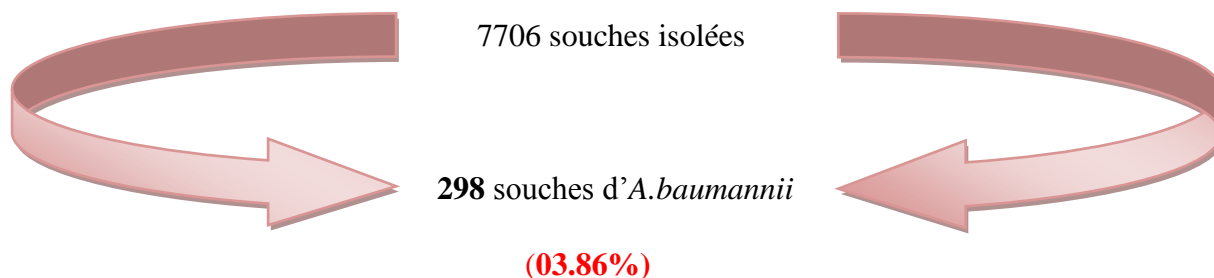


## **Résultats**

## I-Résultat de l'étude rétrospective :

### 1-Taux d'isolement de l'*Acinetobacter baumannii*

En l'espace de 5 ans (de 2012 à 2016) 7706 souches bactériennes toute espèce confondu ont été isolées au niveau du laboratoire, 298 appartenaient à l'espèce *Acinetobacter baumannii* soit un taux d'isolement des *A.baumannii* égale à **03.86%**.



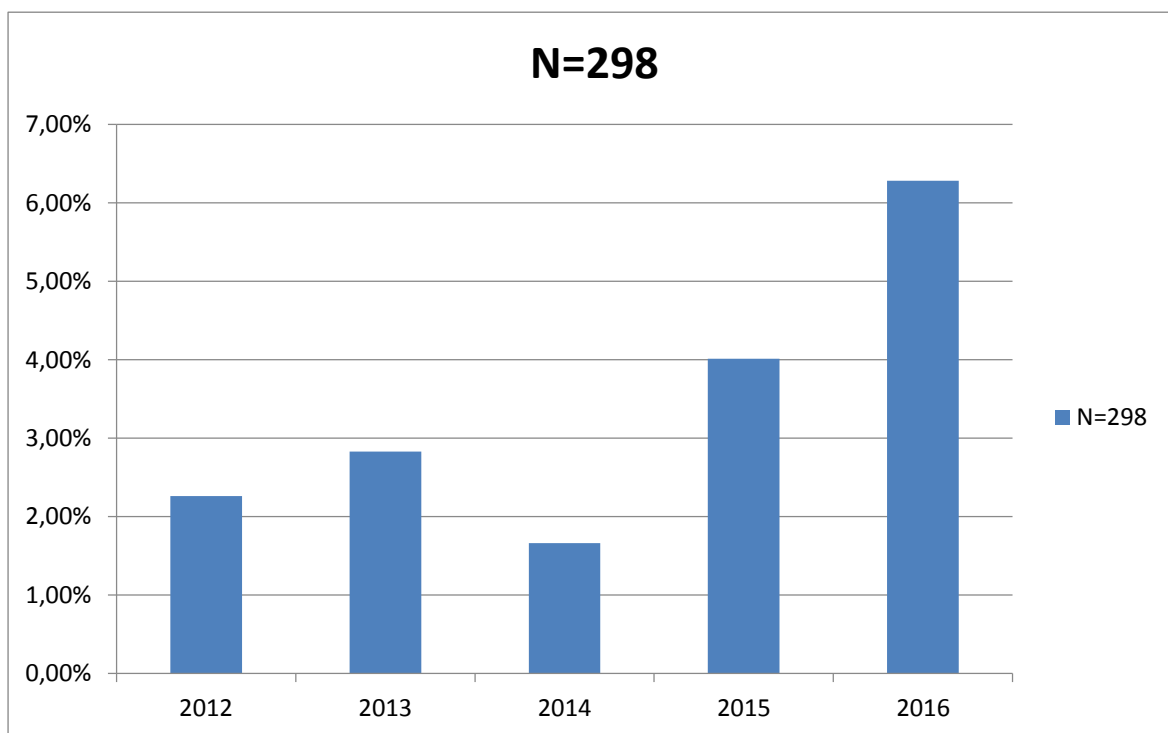
Il est à noter que ce taux était variable selon les années, il a atteint 6.28% en 2016 (voir le tableau 9).

Année	2012	2013	2014	2015	2016	Le total
<b>Le nombre total de souches</b>	927	1408	1384	1695	2292	<b>7706</b>
<b>Le nombre de souches appartenant au genre <i>Acinetobacter</i></b>	29	54	32	76	150	<b>341</b>
<b>Le nombre d'<i>Acinetobacter baumannii</i></b>	21	42	23	68	144	<b>298</b>
<b>Le taux d'isolement d'<i>Acinetobacter baumannii</i></b>	2.26%	2.83%	1.66%	4.01%	6.28%	<b>3.86%</b>

**Tableau 9:** Evolution du taux d'isolement d'*A.baumannii* de 2012 à 2016.

Nous notons une augmentation significative de ce taux qui est passé de 2.26% en 2012 à 6.28% en 2016.

Nous pouvons constater par ailleurs que le nombre total de bactéries isolées au sein de l'unité de microbiologie est passé de 927 en 2012 à 2292 en 2016 ; ce qui traduit une activité qui s'intensifie d'année en année au sein de la dite unité. La figure 24 illustre l'évolution du taux d'isolement d'*A.baumannii* de 2012 à 2016.



**Figure 25-** Evolution du taux d'isolement d'*A.baumannii* de 2012 à 2016.

## **2-Résultat de l'antibiorésistance des souches *A.baumannii***

Grace à l'exploitation des données du logiciel whonet 5.6 nous avons obtenus les résultats que vous trouverez au niveau du tableau10.



Année	Nombres des Souches <i>A.baumannii</i> isolées	Nombres de souches résistantes/ Total souches testées		
		CAZ	CIP	IMP
2012	21	17/21	11/15	6/20
2013	42	35/42	7/8	14/30
2014	23	16/23	12/15	13/23
2015	68	50/55	37/50	36/57
2016	144	94/102	86/108	97/102
sur les 05 années	298	212/243 Soit <b>87.24%</b>	153/196 Soit <b>78.06%</b>	165/212 Soit <b>77.83%</b>

**Tableau 10:** taux de résistance de l'*Acinetobacter baumannii* à la Ceftazidime, Ciprofloxacine et l'Imipénème de 2012 à 2016.

Nous pouvons remarquer que les taux de résistance aux 03 molécules ceftazidime, Ciprofloxacine, Imipénème sont très élevés, ils sont respectivement de 87.24% 78.06% et 77.83%.

Concernant l'imipénème, molécule considérée comme derniers recours dans les infections à **BMR**, la résistance observée est impressionnante et surtout inquiétante, elle est passé de 46,66% en 2013 à 95.10% en 2016, c'est-à-dire que le niveau de résistance a doublé en l'espace de 3 ans et pire il concerne donc presque l'ensemble des souches isolées.

Pendant ces 5 ans d'étude, 48 souches de résistance croisée entre les trois antibiotiques ceftazidime, Ciprofloxacine, Imipénème ont été colligées ;

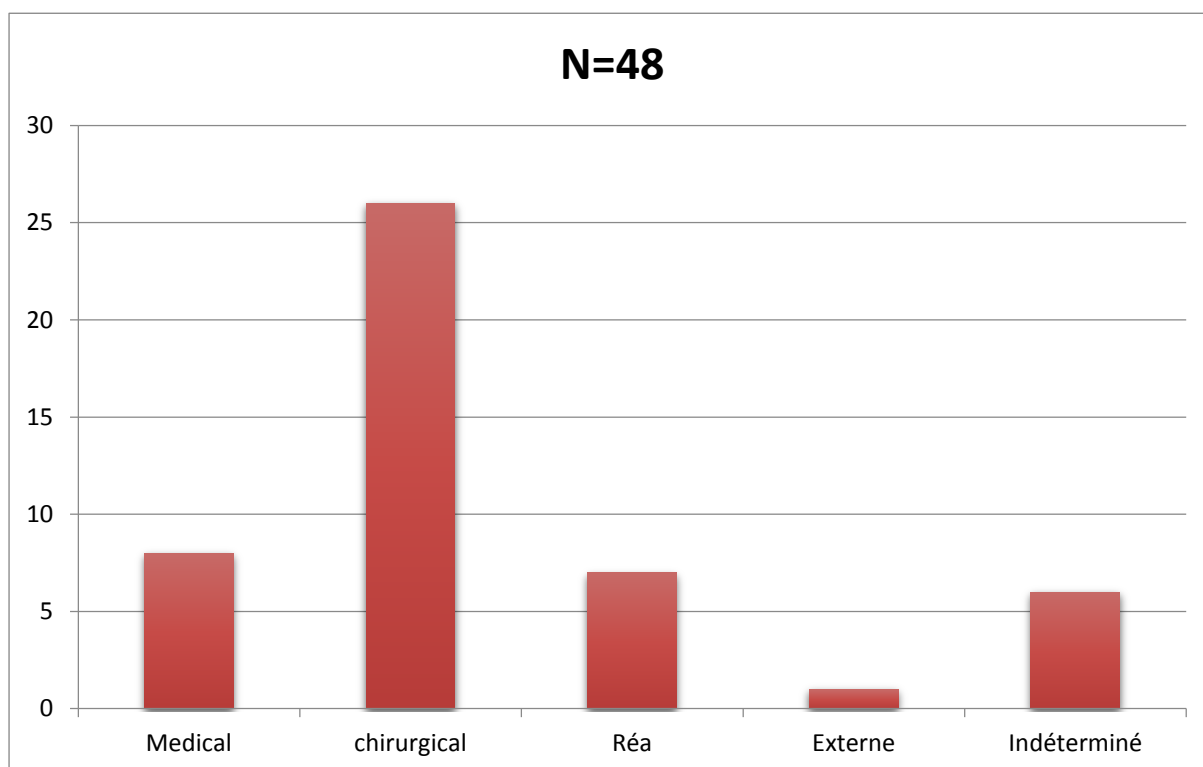
Nous avons procédé à la répartition de ces 48 souches selon :

- Le type de service de provenance et,
- Le type de prélèvement dont elles sont issues.

Les résultats obtenus sont représentées dans les tableaux et diagrammes ci-après :

Type de Services	Medical	Chirurgical	Réanimation	Externe	Indéterminé	Total
Nombre de souches	8	26	7	1	6	48

**Tableau 11:** Répartition des souches des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème colligées selon le type de service de provenance.

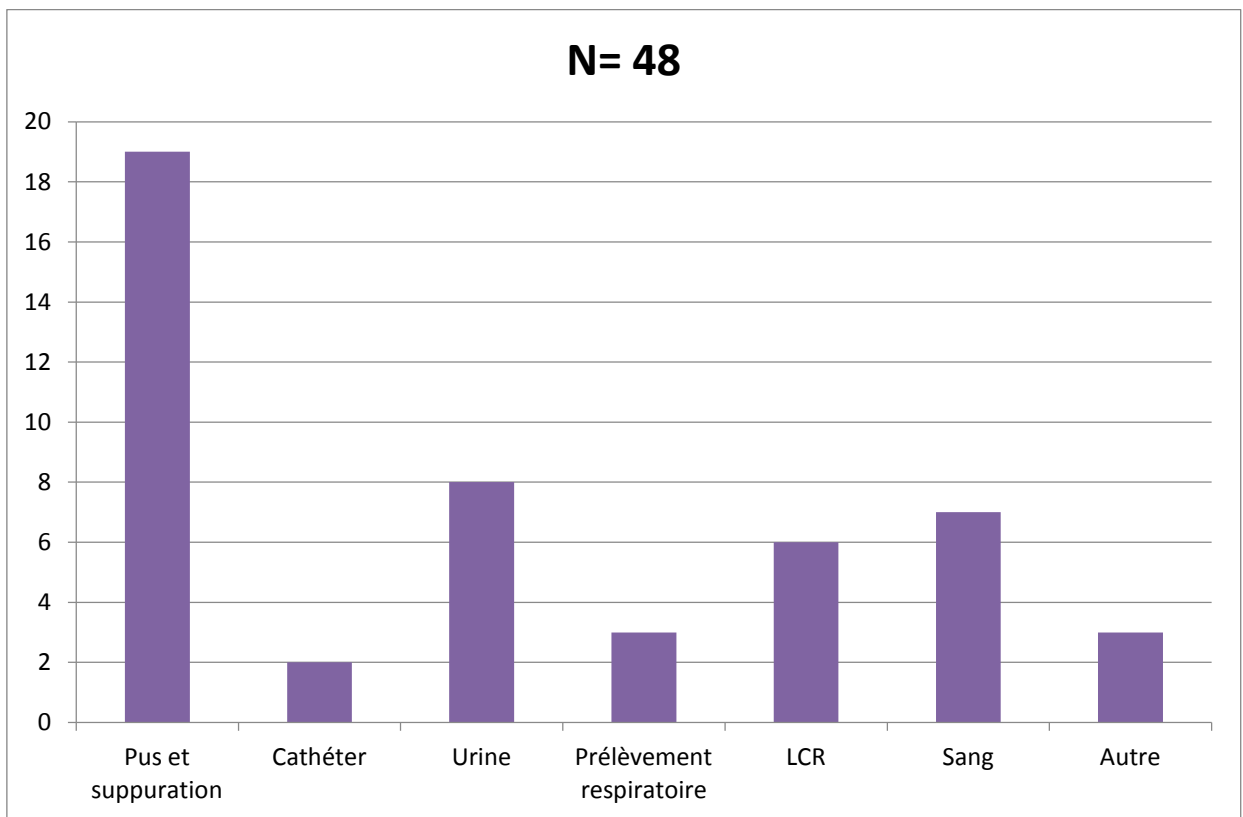


**Figure 26:** Répartition des souches des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème colligées selon le type de service de provenance.

On constate que la plupart des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipénème sont retrouvés dans les services chirurgicaux.

Prélèvement	Pus et suppuration	Cathéter	Urine	Prélèvement respiratoire	LCR	Sang	Autre	Total
Nombre de souches	19	2	8	3	6	7	3	48

**Tableau 12:** Répartition des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipenème colligées selon le type de prélèvement.



**Figure 27 :** Répartition des souches de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et Imipenème colligées selon le type de prélèvement.

On constate que le prélèvement dont on isole le plus les souches *d'Acinetobacter baumannii* de résistance croisée à la ceftazidime, ciprofloxacine et imipenème est le pus et les suppurations.

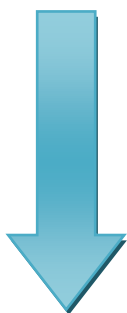
## II -Résultats de l'étude prospective :

### 1-Le taux d'isolement d'*Acinetobacter baumannii* durant l'étude prospective :

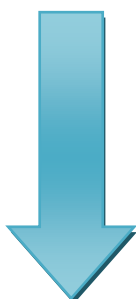
Durant notre période de stage qui s'est étalée du 01er Janvier au 30 Avril 2017 :

791 souches bactériennes ont été isolées au niveau de l'unité de microbiologie du CHU Blida, 60 d'entre elles étaient des souches appartenant au genre *Acinetobacter* et 58 souches à l'espèce *A.baumannii*.

791 toutes souches bactériennes confondues



60 souches appartiennent au genre *Acinetobacter*



58 souches d'espèce *baumannii*

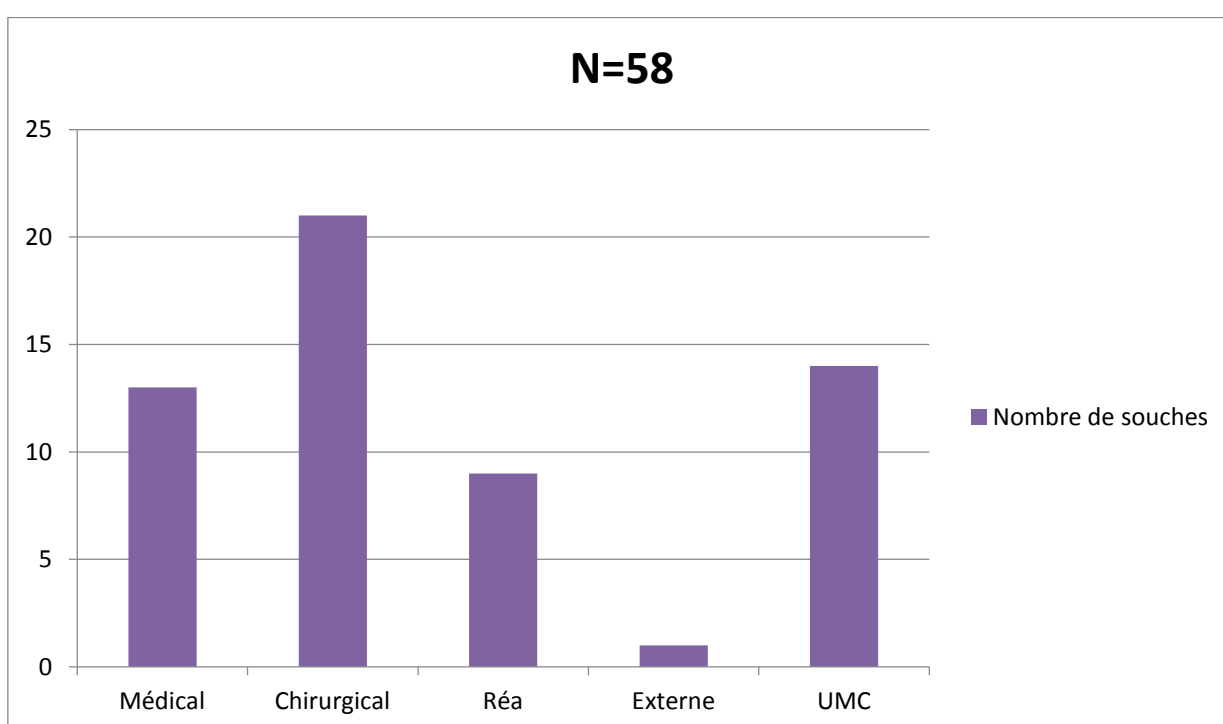
Ainsi le taux d'isolement des bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* est de **7.58 %** et celui de l'*Acinetobacter baumannii* est de **7.33%**. Ce qui revient à dire que l'espèce *baumannii* représente **96.66 %** de l'ensemble des *Acinetobacter* retrouvé.

Ces *A.baumannii* étaient principalement issues de suppurations comme vous pouvez le constater dans le tableau et le diagramme ci-après :

## 2-la répartition des souches isolées selon le type de service de provenance :

Type de Service	Medical	Chirurgical	Réanimation	Externe	UMC	Total
Nombre de souches	13	21	9	1	14	58

**Tableau 13:** Répartition des souches *Acinetobacter baumannii* colligées selon le type de service de provenance.



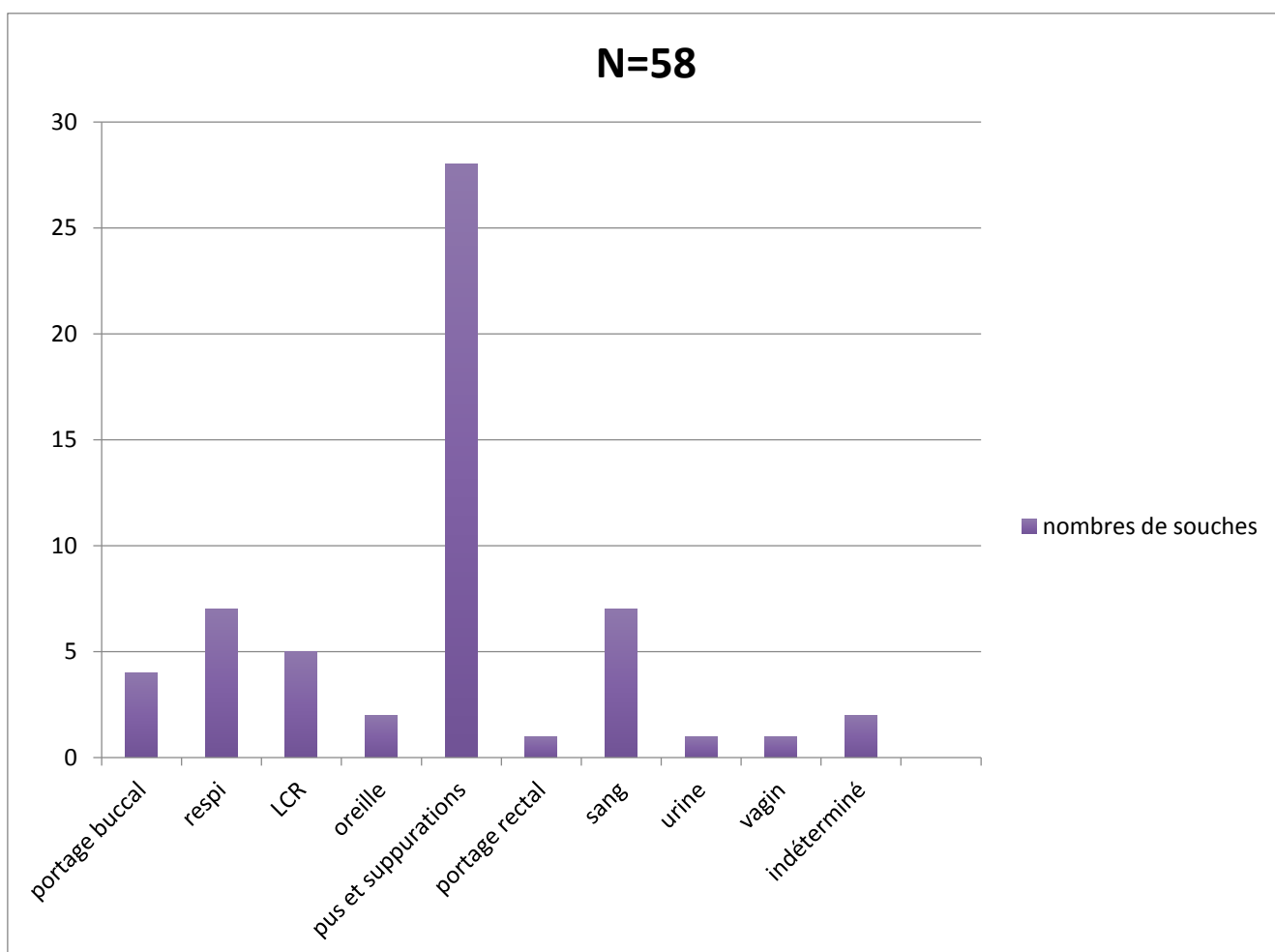
**Figure 28 :** Répartition des souches *Acinetobacter baumannii* colligées selon le type de service de provenance.

Les principaux services pourvoyeurs sont les services chirurgicaux suivis des UMC et de la réanimation.

### 3-la répartition des souches isolées selon le type de prélèvement :

Prélèvement	Portage buccal	respir	LCR	oreille	Pus	Portage rectal	Sang	Urine	Vagin	Indét	Total
Nombres de souches	4	7	5	2	28	1	7	1	1	2	58

**Tableau 14 :** Répartition des souches *Acinetobacter baumannii* colligées selon e type de prélèvement.

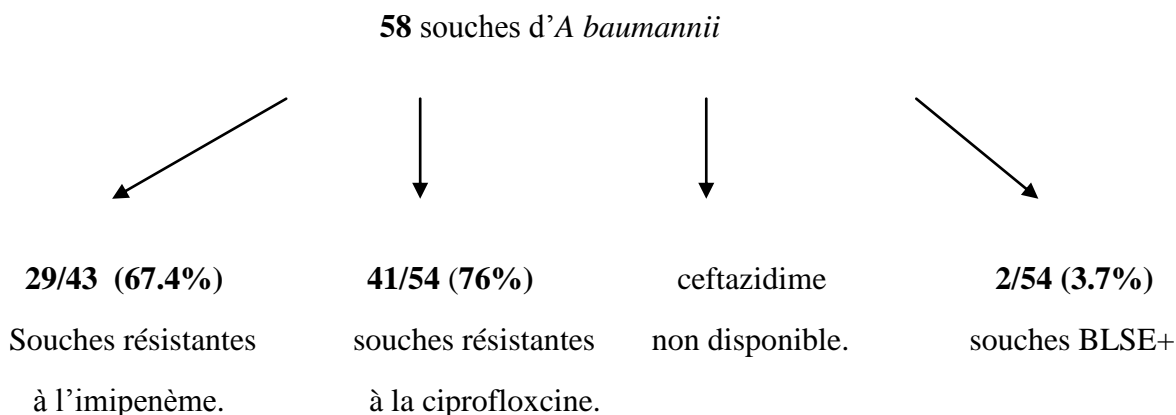


**Figure 29 :** Répartition des souches *Acinetobacter baumannii* colligées selon le type de prélèvement.

On constate que le prélèvement dont on isole le plus les souches d'*Acinetobacter baumannii* est le pus et les suppurations.

#### 4-l'étude de la l'antibiorésistance des souches isolées d'A.baumannii :

Pour ce qui est du profil d'antibiorésistance des *Acinetobacter baumannii*, nos résultats sont représentés dans le diagramme ci-dessous :



Nous nous sommes intéressés aux 29 souches *A.baumannii* résistantes à l'imipénème ABRI et nous avons recherché leur résistance associée :

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistants/nombres de souches testées	Nombre de souches sensibles /nombres de souches testées
PIP	29	29 /29	0/29
TIC	29	29 /29	0/29
TCC	29	29/29	0/29
IMP	29	29/29	0/29
AK	20	19/20	1/29
GM	10	10/10	0/10
TB	29	24/29	3/29
CIP	27	27/27	0/27
LEV	11	11/11	0/11
SXT	21	21/21	0/21
DOX	23	19/23	4/23

**Tableau 15 :** Profil d'antibiorésistance des souches résistantes à l'imipénème.

L'ensemble des souches sont revenues résistants à l'ensemble de molécules testées néanmoins la sensibilité était conservé pour une souche sur 20 testées à l'amikacine, et 3 souches pour 29 testées à la tobramycine, et 4 souches pour 23 testées à la doxycycline ainsi le nombre de souches n'ayant aucune sensibilité aux molécules testés est au nombre de 22 souches.

Nous avons voulu déterminer la valeur précise de la CMI à l'imipenème pour ces 22 souches que l'on conservé au fur et à mesure de leur isolement mais nous n'avons pu faire cette détermination que sur 12 souches car pour les 10 autres la régénération à partir des milieux de conservation n'était pas possible.

Vous trouverez au niveau du tableau les valeurs des CMI retrouvées ;

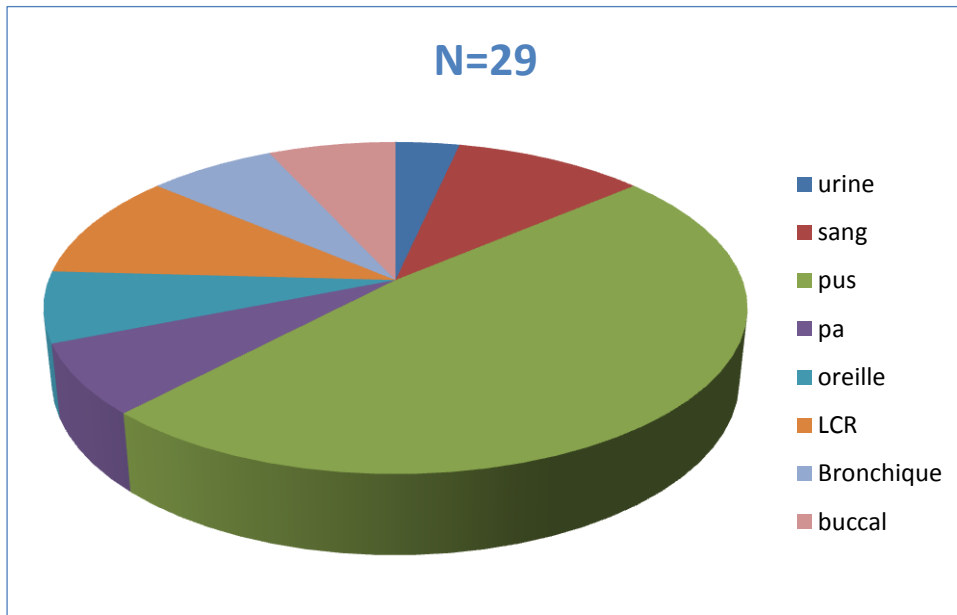
Numéro de souches	Résultat de la CMI (µg/ml)	Interprétation
4487	64	R
5638	64	R
5616	64	R
7374	32	R
5272	256	R
5593	128	R
5201	32	R
5605	16	R
4484	32	R
5487	256	R
5352	32	R
5404	32	R

**Tableau 16:** Les résultats des CMI à l'imipenème pour les 22 souches qui ne présentent aucune sensibilité.

Les valeurs des CMI varient entre 16 et 256 µg/ml.



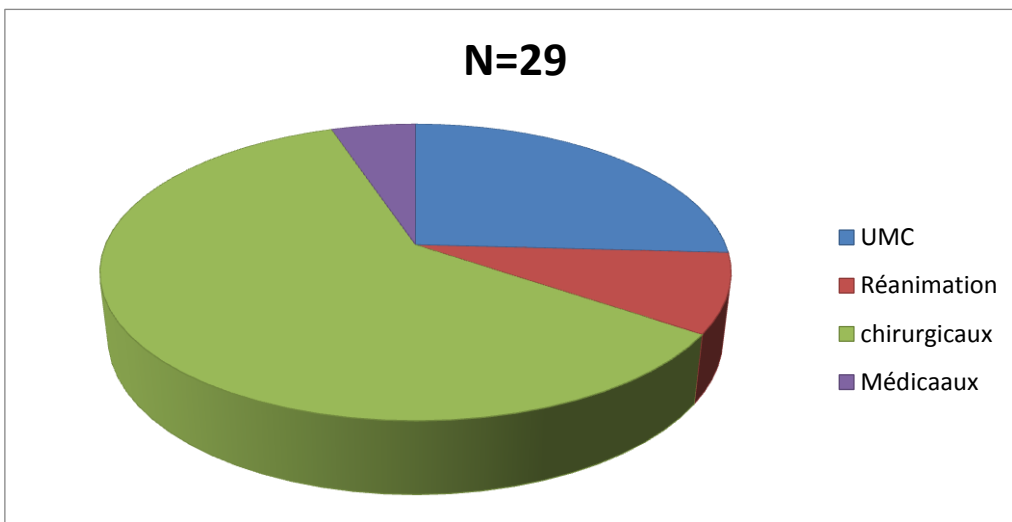
**5-La répartition des souches ABRI selon le type de service de provenance et type de prélèvement :**



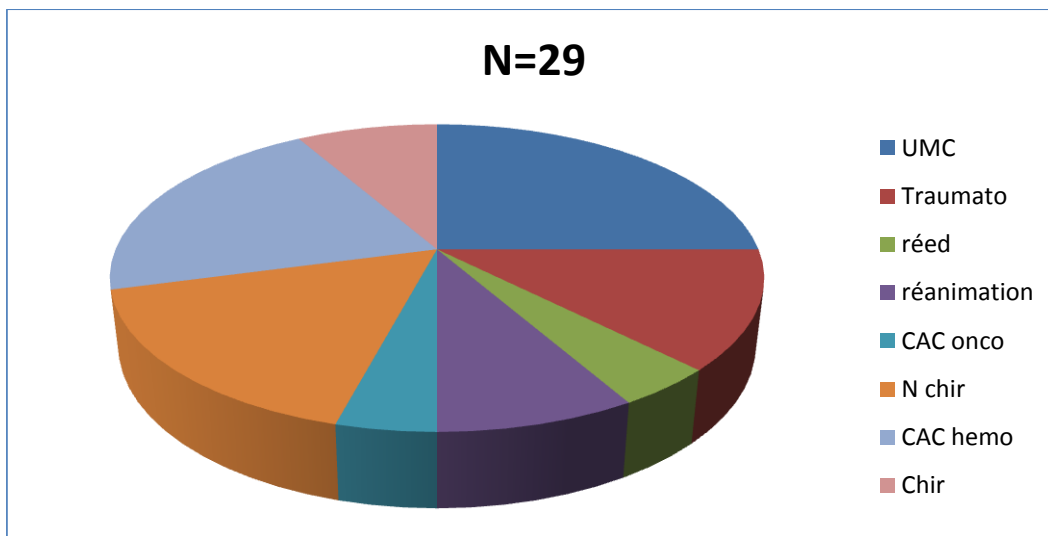
**Figure 30 :** La répartition des souches selon le type de prélèvement.

On constate que le prélèvement dont on isole le plus les souches *d'Acinetobacter baumannii* résistante à l'imipénème ABRI est le pus et suppurations

**6-La répartition des souches ABRI selon le service de provenance et le type de service de provenance :**



**Figure 31 :** La répartition des souches ABRI selon le type de service de provenance.



**Figure 32:** La répartition des souches ABRI selon le service de provenance.

Les types de services pourvoyeurs de ces souches ABRI sont les services chirurgicaux avec 14 souches suivis des services médicaux 7 souches, les urgences médicochirurgicales 6 souches et la réanimation 2 souches.

On relève aussi la présence de ces souches au niveau du CAC (centre anticancéreux) avec un total de 11 souches réparti comme suit 5 souches au CAC chirurgie, 5 au CAC hématologie et une souche au CAC oncologie.



**Discussion**

Nous avons mené cette étude dans le but d'évaluer le taux d'isolement des souches *A.baumannii* au sein du CHU Blida et plus particulièrement les souches dites ABRI c'est-à-dire résistante à l'imipenème ;

Les résultats obtenus suite à l'étude rétrospective (d'une durée de 5 ans) ont mis en évidence un taux d'isolement des *Acinetobacter baumannii* non négligeable égale à **03.86%** ;

On a pu constater une augmentation de ce taux suivant les années passant de **02.26%** en 2012 à **06.28%** en 2016 ainsi le taux a pratiquement triplé.

Concernant l'antibiorésistance des *Acinetobacter baumannii* il est alarmant avec un taux global de résistance à la céftazidime de **87.24%**, ainsi qu'un taux de résistance de **78.06%** pour la ciprofloxacine et **77.83%** pour l'imipenème.

*Acinetobacter baumannii* est résistant à l'imipenème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine grâce à sa capacité à changer sa structure génomique ; ce qui explique la rapidité avec laquelle il capte des marqueurs de résistance lorsqu'il est sous pression antimicrobienne, comme cela peut se produire dans un environnement à haut risque, tel que les unités de soins intensifs et les services de chirurgie où les antimicrobiens à large spectre sont couramment utilisés. **(Aoife Howard et al 2012).**

Nous avons comparé les résultats des taux de résistance aux antibiotiques obtenus en prenant à titre d'exemple l'année 2016, avec les données des rapports 2013 et 2014 du Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux antibiotiques (AARN). Il n'en ressort pas de différences significatives si ce n'est des taux légèrement supérieurs aux données nationales, pour la ceftazidime est d'une façon plus marquée pour l'imipenème.

L'antibiotique	Nos résultats pour l'année 2016		Rapport 2013		Rapport 2014	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
<b>Ciprofloxacine</b>	86/108	79.62%	471/577	81.63%	534/676	78.99
<b>Imipenème</b>	97/102	95.09%	457/647	70.63%	902/1164	77.49
<b>Ceftazidime</b>	94/102	92.15%	765/878	87.13%	1114/1279	87.10

**Tableau 17:** comparaison des résultats de notre étude avec les rapports AARN sur la résistance aux antibiotiques.

Concernant l'évolution du taux d'isolement des souches ABRI, il est passé de **46.66%** en 2013 à **95.10%** en 2016, donc actuellement presque la totalité des *Acinetobacter baumannii* est résistante à l'imipenème.

Durant les 05 ans nous avons colligée 48 souches résistantes aux 3 molécules céftazidime et la ciprofloxacine et l'imipenème, provenant principalement des services chirurgicaux, ce qui concorde avec les observations issues d'études similaires ; on citera l'étude de **Ait kadi M et al**, menée à Rabat, Maroc en 2006, celle de **Ben Haj Khalifa A .et khedher M. et al** , à l'hôpital Tahar Safar de Mahdia durant la période (2006-2008) et de **Elouennass M.et al** ,dans une étude rétrospective réalisé durant la période du 30 Juin 2000 au 30 Juin 2001,au service de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat Maroc 2005 au laboratoire de microbiologie du CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc .

Cette fréquence au sein des services chirurgicaux pourrait être expliqué par le fait que les patients au sein de ces services sont des sujets qui passent une période prolongée à l'hôpital ; ce sont parfois des malades chroniques et/ou immunodéprimés ; présentant souvent des traumatismes multiples et dont la prise en charge nécessite une antibiothérapie à large spectre à l'origine de sélection de résistance ; ils représentent de ce fait un groupe à risque élevé d'infection à *A. baumannii*.

Sans oublier que l'acte chirurgical lui-même est un facteur d'acquisition d'infection à germes hospitaliers.

Il faut savoir également que les patients au sein de ces services acquièrent des dispositifs artificiels tels que les valves de dérivation, cathéters, sutures, des ventilateurs sur lesquels *A. baumannii* a la capacité de former des biofilms.

Selon nos résultats le prélèvement dont sont issues la plupart des souches est le pus ce qui revient à dire que cette bactérie a été à l'origine de suppurations, avec souvent un pronostic vital engagé. Ceci est en contradiction avec les données de la littérature (**Ben Haj Khalifa, et al 2006**), (**Elouennass M et al 2003**), (**Lahsoune M, et al 2007**) qui place les prélèvements respiratoires en pole position, alors que dans notre cas c'est les suppurations. On pourrait avancer l'hypothèse qu'au CHU de Blida les infections à *A.baumannii* seraient plutôt des infections sur site opératoire. ces constatations ont également été mentionnés dans des études publiés par docteur Berouaken.S et al (**Berouaken S et al 2015**) qui a conclu sur l'implication de notre bactérie d'intérêt comme germe de surinfection.

Les constatations émanant de l'étude prospective vont dans le même sens que ceux de l'étude rétrospective,

On a observé que la plupart des *Acinetobacter* sont des *Acinetobacter baumannii* (**96.66%**), le taux d'isolement des *Acinetobacter baumannii* est de **7.33%**, ils provenaient principalement des services chirurgicaux, on note par ailleurs que 11 souches provenaient du centre anti cancer de Blida (CAC).

Le taux de résistance à l'imipénème était de **67.4%**, celui de la ciprofloxacine de **76%**.

Sachant que la définition d'un *Acinetobacter baumannii* **BMR** est un *Acinetobacter baumannii* résistant à la ceftazidime et/ou à la ciprofloxacine et/ou à l'imipénème, nous pouvons dire que la plupart des souches *Acinetobacter baumannii* isolées au sein de CHU Blida sont des **BMR**.

Le nombre de souches revenues résistantes à l'ensemble des molécules testées est de 22 souches; ces souches sont soit des souches **XDR** (Extensively-Drug Résistant bacteria )qui veut dire que leur sensibilité est conservée uniquement pour une ou deux classes d'antibiotiques si la colistine revient sensible, ou des souches **PDR** donc Pan- Drug Resistant bacteria qui signifie qu'elles sont résistantes à tout les antibiotiques donc elle revient résistante même à la colistine.

Il est à savoir qu'environ 75 000 cas d'infections à **XDR** *A. baumannii* se produisent chaque année dans le monde, entraînant 30 000 décès et des coûts de santé excédentaires de

742 millions de dollars par rapport aux infections causées par des souches sensibles (**Munoz P et al 2010**).

Afin de classer ces 22 souches en souches **XDR** ou **PDR**, l'étude de la sensibilité à la colistine est nécessaire ; ceci faisait partie de nos objectifs mais devant l'indisponibilité des bandelettes CMI E-test colistine et l'impossibilité de pratiquer la technique de dilution en milieu gélosé (car la colistine diffuse mal en gélose), nous n'avons pu répondre à cet objectif.

Il est important de relever que l'étude de la sensibilité des *Acinetobacter baumannii* à la colistine est plus qu'indispensable car actuellement en plus de la dissémination des souches **ABRI**, nous sommes confronté à l'émergence de souche *Acinetobacter baumannii* résistante à la colistine dont les premières descriptions sont apparues vers l'année 2009 (**Adams M et al 2009**) et selon une étude publiée en 2015 par les chercheurs de l'université d'OXFORD, ces souches sont presque exclusivement retrouvées chez des patients ayant reçu au préalable de la colistine pour le traitement d'une infection à **ABRI** ; donc il s'agit d'une émergence sous la pression de sélection antibiotique et cette émergence semble comme une brèche dans ce qui semblait être le dernier rempart contre la pan résistance (**Zohoun A et al 2012**).

Suite à la pratique au laboratoire lors de notre stage, on a constaté une défaillance de la conservation des souches bactériennes, en effet nous n'avons pas pu régénérer certaines souches conservées, qui serait probablement due à la mauvaise qualité du milieu de conservation ou à une mauvaise technique, dans la mesure où la technique adoptée au niveau du laboratoire central du CHU Blida est celle **des repiquages successifs** ; on rappelle que une fois ensemencés, les tubes de conservation devraient être placés à l'étuve pour que la croissance débute puis placés dans une armoire réfrigérée à 4°C ou parfois laissés à température ambiante. La vitalité de la souche se maintient pendant des durées variables, selon la température et l'espèce microbienne. Au bout de ce délai, un nouveau repiquage est réalisé, (**Guiraud, 1998**).

Ceci dit il serait préférable de se diriger vers des méthodes de conservation plus fiables à savoir : La Congélation, la dessiccation, la lyophilisation (voir annexe 5).



**CONCLUSION  
&  
PERSPECTIVES**



L'*A.baumannii* occupe une place importante en pathologie hospitalière en raison de sa grande capacité à coloniser et à persister dans l'environnement hospitalier, sa fréquence croissante, son potentiel pathogène et sa capacité à acquérir continuellement des résistances. Par conséquent, cette bactérie doit impérativement faire l'objet de programmes de surveillance.

L'étude menée a permis de réaliser une description du profil épidémiologique et de la résistance des *A.baumannii* isolés au CHU de Frantz Fanon de Blida entre Janvier 2012 et Avril 2017.

Cette étude a permis de noter la fréquence croissante des isolats d'*A.baumannii* entre 2012 et 2017 notamment ceux résistants à l'imipénème ; en effet cette bactérie pose actuellement, un problème de multirésistance aux antibiotiques voir de totorésistance.

Devant cette situation alarmante qui limite fortement l'arsenal thérapeutique et accroît le risque d'impasse en matière de traitement, il est impératif de rationaliser l'utilisation des antibiotiques et d'améliorer les mesures d'hygiène et de mettre en place des systèmes de veille sanitaire afin de superviser l'émergence et la propagation des gènes dont ceux codant pour des carbapénèmases.

Il est également important de souligner tout l'intérêt des méthodes de biologie moléculaire avec une étude de clonalité devant des cas groupés et de petites épidémies

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus doit impérativement être transmis aux équipes soignantes des services pour maintenir une sorte de pression sur les objectifs à atteindre.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aboura A. Applications de la cytogénétique moléculaire à l'étude de pathologies humaines. Thèse p26.
- Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, et al; Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the Pmr Ab two component systems. Antimicrob Agents Chemother 2009, p53.
- Ait el Kadia M, et al 2006 ; Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème par production de métallo- $\beta$ -lactamase p386-389.
- Aoife Howard, Michael O'Donoghue, Audrey Feeney and Roy D. Sleater 2012 " *Acinetobacter baumannii* an emerging opportunistic pathogen", Landes Bioscience, vol 3:3,243-250.
- Avril J, Dabernat H, et Monteil D ; Bactériologie clinique 3<sup>ème</sup> Ed Elsevier Paris, p602.
- Allaouchiche B ; Antibiothérapie des infections nosocomiales sévères: contre la monothérapie en traitement probabiliste 2004, p643.
- BD Logo, Dickinson and Company, 2014.
- Brisou J, Prevot AR; Studies on bacterial taxonomy, the revision of species under Acromobacter group, Ann Inst Pasteur (Paris). 1954; p722.
- Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY; A study of the Moraxella group II Oxidative-negative species (genus Acinetobacter)., 1968; p 95.
- Berlau J, Aucken H, Houang E, Pitt TL; Isolation of *Acinetobacter spp* including *A. baumannii* from vegetables: implications for hospital-acquired infections. J Hosp Infect. 1999; p201.
- Berouaken.S et al ; profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées au CHU Blida 2015 samic.
- Bochud P, Glausser M, Calandra T; International Sepsis Forum. Antibiotics in sepsis. Intensive Care Med 2001; p48.
- Berlana D, Llop JM, Fort E, Badia MB, Jôdar R; Use of colistin in the treatment of multiple-drug-resistant Gram-negative infections. Am J Health Syst Pharm 2005; p62-39-47.
- Bou G, Martinez-Beltran J; Cloning, nucleotide sequencing and analysis of the gene encoding an AmpC B-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. 2000; 428-32.
- Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL; Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2006; p50.
- Benedict RG, Langlyke AF. Antibiotic activity of bacillus polymyxa. J Bacteriol 1947; p54:24.
- Bergogne-Bérézin E; Bergogne-Bérézin E, Friedman H, Bendinelli M, editors Acinetobacter Biology and Pathogenesis. New York, NY: Springer US; 2008; p 1-18.
- Carbonelle E, Nassif X ; Utilisation en routine du MALDI-TOF-MS pour l'identification des

pathogènes en microbiologie médicale. MedSci 2011; p 882.

-Chantal Bertholom, 2015, « Acinetobacter une bactérie aux multiples visages », option BIO n°534-535.

-Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins CTINILS, définition des infections associées aux soins mai 2007.

-Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, et al, AdeI JK, A resistance-nodulation-cell division pump exfluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2008; p52:55.

-Descamps Prévention des risques infectieux en réanimation 1 ère journée de réflexion et d'échanges Plan stratégique régional 2009-2013 de prévention des infections liées aux soins 15 Décembre 2011.

-Desai T, Tyrrell G, Finlay W.H. In vitro evaluation of nebulization Properties, antimicrobial activity, and regional airway surface liquid concentration of liposomal polymyxin B sulfate Pharm Res 2003; p442-447.

-Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nat Rev Microbiol. 2007; p939-51.

-Euzéby J ; Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse 2010

-Endimiani A, Luzzaro F, Migliavacca R, et al ; Spread in an Italian hospital of a clonal *Acinetobacter baumannii* strain producing the TEM-92 extended-spectrum beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 2007, p17:533-8.

-Elouennass M et al ; *Acinetobacter baumannii*, étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction, Rabat Maroc, Médecine et maladies infectieuses 2003, 33,361-364.

-Falagas ME, Karveli EA, Kelesidis I, Kelesidis T; Community-acquired *Acinetobacter* infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26 (12): 857-68.

-François Denis, Marie-Cécile Ploy, Christian Martin, Edouard Bingen, Roland Quentin, 2007 : bactériologie médicale, technique usuelles, Elsevier Msson.

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

-Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, et al. Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patient: a matched cohort study. Crit Care Med 2003; 10:2478-82.

-Gillespie S et Hawkey P.M. 2006. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Edition wiley. 2eme Edition. London. p604.

-Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. J Clin Microbiol 1991;:277-82.

- Gundi VA, Dijkshoorn L, Burignat S, Raoult D, La Scola B. Validation of partial rpoB gene sequence analysis for the identification of clinically important and emerging *Acinetobacter* species. *Microbiology* 2009; 155:2333-41.
- Grotiuz G, Sirok A, Gadea P, Varela G, Schelotto F. Shiga toxin 2-producing *Acinetobacter haemolyticus* associated with a case of bloody diarrhea. *J clin Microbiol* 2006; 44 (10): 3838-41.
- Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. Taylor & Francis; 2012;3[3]:243–50
- Henriksen SD. Mirabelle, *Acinetobacter*, and the Mimeae. *Bacteriol Rev.* 1973; 37[4]:522.
- Holloway KP, Roupael NG, Wells JB, King MD, Blumberg HM. Polymyxin B and doxycycline use in patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in the intensive care unit. *Ann Pharmacother* 2006; 40 (11): 1939-45.
- Héritier - C, Poirel L, Fournier PE, et al. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4174-9.
- Jean Christophe DELAROZIERE ;épidémie d'*A.baumannii* avec carbapénémases en région PACA) 2011.
- Kim M, Peleg AY, Lodise TP et al. Management of meningitis due to antibiotic-resistant *Acinetobacter* species. *Lancet Infectious Diseases* 2009; 9 (4): 245-55.
- Krol V, Hamid HS, Cunha BA. Neurosurgically related nosocomial *Acinetobacter baumannii* meningitis: report of two cases and literature review. *J Hosp Infect* 2009; 71(2): 176-80.
- Lee. K, Lim D, Yong J, Y Chong, 2003. Evaluation of the Hodge Test and the Imipenem-EDTA Double-Disk Synergy Test for differentiating Metallo- $\beta$ -lactamase-Producing Isolates of *Pseudomonas spp.* And *Acinetobacter spp.*
- Leung WS, Chu CM, Tsang KY, et al. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest* 2006; 129:102-9.
- Lee NY, Lee HC, Ko NY, et al. Clinical and economic impact of multidrug resistance in nosocomial *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28:713-9.
- Littlewood JM, Koch C, Lambert PA, Hoiby N, Elborn JS, Conway SP, et al. A 10-year review of colomycin. *Respir Med* 2000; 94:632—40.
- S. Mechkour, Y. Ollivier, C. Cattoen, D. Descamps, A. Vachée, S. Alfandari, K. Blanckaert-Préventions de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Recommandations nationales. Consensus formalisé d'experts. SFHH. Avril 2009.
- Moran-Gilad, A. Adler, D. Swartz, S. Navon-Venezia and Y. Carmeli. 2014. Laboratory evaluation of different agar media for isolation of carbapenem-resistant *Acinetobacter spp.* *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 33:1909-1913.
- Munoz-Price LS, Zempower T, Penugonda S et al, *Résultat clinique des infections*

*Acinetobacter baumannii* résistantes aux carbapénèmes: étude d'une épidémie monoclonal à 2 états. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010.

-Masson Elsevier 2012;Decré D. *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation.

-Menon T, Shanmugasundaram S, Nandhakumar B, Nalina K, Balasubramaniam. Infective endocarditis due to *Acinetobacter baumannii* complex a case report. Indian J Pahol Microbiol 2006; 49 (4): 576-8.

-Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gramnegative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. Clin Microbiol Infect 2005; 11(2): 115-21.

-Nadia Hidri, 2012, identification d'*Acinetobacter spp* au laboratoire: Revue francophone des laboratoires –N°44137-42.

-Naas T, Coignard B, Carbonne A, et al. VEB-1 Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. Emerg Infect Dis 2006;12:1214-22.

-Paul G, Joly-Guillou ML, Bergogne-Berezin E, et al. Novel carbeni cillin-hydrolyzingb-lactamase (CARB-5) from *Acinetobacter calcoaceticus* Var anitratus. FEMS Microbiol Lett 1989; 50:45-50.

-Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev., 2008, 21 (3), pp.538-582.

-Park YK, Peck KR, Cheong HS, et al. Résistance aux médicaments extrêmes chez les infections d'*Acinetobacter baumannii* en unités de soins intensifs, Corée du Sud. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (8): 1325-1327.

-Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51[10]:3471–84.

-Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, Epidemiology, and genetics of class D - lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(1): 24-38.

-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/May/2016).

-Seward RJ, Lambert T, Towner KJ. Molecular epidemiology of aminoglycoside resistance in *Acinetobacter spp*. J Med Microbiol 1998; 47:455-62.

- Scola B, Gundi VAKB, Khamis A, Raoult D. Sequencing of the *rpoB* Gene and Flanking Spacers for Molecular Identification of *Acinetobacter* Species. J Clin Microbiol. 3 mars 2006; 44(3):827-832.

-Visca P, Seifert H, Towner KJ. *Acinetobacter* infection--an emerging threat to human health. IUBMB Life. 2021. Parte AC. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature.

- Vila J, Navia M, Ruiz J, et al. Cloning and nucleotide sequence analysis of a gene encoding an OXA-derived beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii* ,Antimicrob Agents Chemother 1997; 41:2757-9.
- Wang JT, McDonald LC, Chang SC, et al. Community-acquired *Acinetobacter baumannii* in adult patients in Taiwan. J Clin Microbiol 2002;40:1526-9.
- Zohoun A, Dao I, Karfo R, Essayagh T, Sekhsokh Y, Bousta M, et al. [Nosocomial multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis in postoperative neurosurgery: a case study]. Pathol Biol (Paris). 2012;60[2]:e6–8.
- Zarrilli R, Vitale D, Di Popolo A, et al. A plasmid-borne blaOXA-58 gene confers imipenem resistance to *Acinetobacter baumannii* isolates from a Lebanese hospital. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52:4115-20.

# Annexe 1

**Tableau 1 : Appareillage, verreries, réactifs et solutions :**

Appareillage et verreries	Réactifs et solutions
-gants jetables	-eau physiologique stérile à 0.9%
-bec bunsen	-eau distillée stérile
-étuve d'incubation à 37°C	-eau de javel
-étuve de séchage à 60°C	-eau oxygénée (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
-réfrigérateur à 4°C	-alcool à 95°
-microscope optique	-violet de gentiane
-écouvillons stériles	-Lugol
-boite de pétri	-fuschine
-Lame et lamelle	-bleu de méthylène
-pipette pasteur stérile	-réactif de kovacs
-tube à essai stérile	-NRI et NRII
-portoir	-VPI et VPII
-distributeur d'antibiotiques	-réactif de tryptophane désaminase TDA
-pied à coulisse	-réactif de latex
-pince métallique et en bois	-l'huile de vaseline
-anse de platine	
-carte d'agglutination	
-densitomètre	
-cellule MALASSEZ ou NAGEOTTES	

## Annexe 2

Toutes les images figurées ci –dessous sont originales



**Microscope optique**



**Cellule MALASSEZ**



**Bec Bunsen**



**Etuve**



**Les reactifs de la coloration de Gram  
(violet de gentiane,Lugol,alcool,Fushine)**



**Bleu de Methylene**



# Annexe 3

MINISTRE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE  
 CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA  
 UNITE DE FRANTZ-FANON  
 LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE  
 UNITE DE MICROBIOLOGIE

## FEUILLE DE RESULTATS DES EXAMENS BACTERIOLOGIQUES

### EXAMENS DIRECTS

#### 1 - Examens à l'état frais :

- \* Numération : 

Globules blancs	<input type="text"/>
Globules rouges	<input type="text"/>
- \* Parasites
- \* Levures
- \* Cellules épithéliales
- \* Cristaux
- \* Cylindres
- \* Recherche de capsules
- \* Microscopie à fond noir (Recherche de spirochètes)

#### 2 - Frottis colorés :

- \* Gram : 

Bacilles à Gram négatif	<input type="text"/>	Cocci à Gram négatif	<input type="text"/>
Bacilles à Gram positif	<input type="text"/>	Cocci à Gram positif	<input type="text"/>

Score : (Prélèvements vaginaux)

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
0	1	2	3	4

Classe : (Sécrétions broncho-pulmonaires)

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
1	2	3	4	5

- \* MGG
 

	Numération	Aspect
PNN	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Lymphocytes	<input type="text"/>	

\* IFD (Lmmuno-fluorescence directe).....

\* Autres colorations : .....

### CULTURE

positive  négative

Numération :  UFC<sup>2</sup> /ml (\* Unité formant colonie)

### IDENTIFICATION

Espèce bactérienne N° 1 .....

Espèce bactérienne N° 2 .....

Espèce bactérienne N° 3 .....

### INTERPRETATION ET COMMENTAIRES

.....

.....

Blida le :

MINISTRE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE  
CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA  
UNITE DE FRANTZ-FANON  
LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE  
UNITE DE MICROBIOLOGIE

### FEUILLE DE RESULTATS : ANTIBIOGRAMME

Nom - Prénoms : ..... Age : .....

N° d'ordre : ..... Service : .....

Nature du prélèvement : .....

Germe (s) isolé (s) : .....

Commentaires : .....

ANTIBIOTIQUES	SIEGES	RESULTATS			CMI mg/l	Concentrations critiques mg/l
		S	I	R		
<b>BETA - LACTAMINES</b>						
Penicilline	P					
Oxacilline	OX					
Ampicilline	AM					
Amoxicilline	AMX					
Ticarcilline	TIC					
Pipéracilline	PIP					
Amox+Ac clavulanique	AMC					
Céfazoline/Céfalexine	CZ/CN					
Céfoxitine	FOX					
Céfotaxime/Ceftriaxone	CTX/CRO					
Ceftazidime	CAZ					
Impénème	IPM					
Aztréonam	ATM					
<b>AMINOSIDES</b>						
Gentamicine	GM					
Amikacine	AN					
Tobramycine	TM					
Spectinomycine	SPT					
<b>MACROLIDES</b>						
Erythromycine	E					
Lincomycine	L					
Clindamycine	CM					
Pristinamycine	PT					
Spiramycine	SR					
Azithromycine	AZM					
<b>QUINOLONES</b>						
Acide nalidixique	NA					
Ofloxacin/Péfloxacine	OFX/PEF					
Ciprofloxacine	CIP					
Levofloxacine	LEV					
<b>DIVERS</b>						
Tétracycline	TE					
Colistine	CS					
Cotrimoxazole	SXT					
Furanes	FT					
Acide fusidique	FA					
Rifamycine	RA					
Fosfomycine	FOS					
Vancomycine	VA					
Metronidazole	MTR					

Interprétation : S:sensible - I : Intermédiaire - R : Résistant.

Fiche de résultats de l'antibiogramme

## Annexe 4

### La lecture de la galerie miniaturisée Api 20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
<b>LDC</b>	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
<b>ODC</b>	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
<b>CIT</b>	Citrate de sodium	Utilisation su citrate	vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA/ Immédiat</b>	
			Jaune	Marron foncé
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	<b>IND/ 2mn, maxi</b>	
			Jaune	Anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<b>VP 1+ VP 2/10mn</b>	
			Incolore	Rosé-rouge
<b>GEL</b>	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>R+HA</b>	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MEL</b>	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>OX</b>	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	<b>Ox /5-10mn</b>	
			Incolore	Anneau violet
<b>NO3-NO2</b>	Tube GLU	Production de NO2	<b>NIT 1+ NIT2 / 2-3mn</b>	
			Jaune	Rouge
		Réduction au stade N2	ZN	
			Rouge	Jaune
<b>MOB</b>	Microscope	Mobilité	Immobilité	Mobile
<b>MAC</b>	Mileu de MacConkey	Culture sur	Absence	Présence
<b>OF</b>	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'air	Vert vert	Jaune Jaune
<b>CAT</b>		Possession d'une catalase	<b>H2O2 / 1-2 mn</b>	
			Pas de bulles	Bulles

**Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée Api 20NE**

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>NO3</b>	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT1 +NIT2 /5mn	
			Incolore	Rose –rouge
<b>TRP</b>	Tryptophane	Réduction des nitrates en azote	ZN/5mn	
			Rose	Incolore
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
<b>ESC</b>	Esculine	Hydrolase	Jaune	Gris/marron/noir
<b>GEL</b>	Gélatine	Hydrolase	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
<b>PNPG</b>	p-nitro-phényl-βD-galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>GLU</b>	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
<b>ARA</b>	Arabinose			
<b>MNE</b>	Mannose			
<b>MAN</b>	Mannitol			
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucosamine			
<b>MAL</b>	Maltose			
<b>5GNT</b>	Gluconate			
<b>CAP</b>	Caprate			
<b>ADI</b>	Adipate			
<b>MLT</b>	Malate			
<b>CIT</b>	Citate			
<b>PAC</b>	Phényl-acétate			
<b>Ox</b>	Tétraméthyl-p-phenylène diamine			

## **Annexe 5**

### **Les techniques de conservations à utiliser :**

**La Congélation :** la mise en œuvre de ce procédé repose sur le choix de la température et surtout la vitesse d'abaissement à la température choisie. Pour leur remise en culture, il sera préférable d'assurer une décongélation la plus rapide possible.

**La dessiccation :** paraît être une bonne alternative, il s'agit d'un procédé simple à mettre en œuvre, consistant à déshydrater en utilisant la chaleur sèche ou des produits chimiques comme l'anhydride phosphorique.

**Lyophilisation** qui est un procédé de conservation des produits biologiques par dessiccation sous vide à basse température. (A. Meyer et al ,2004).

## Annexe 6

Quelques étapes pour la réalisation de l'antibiogramme :



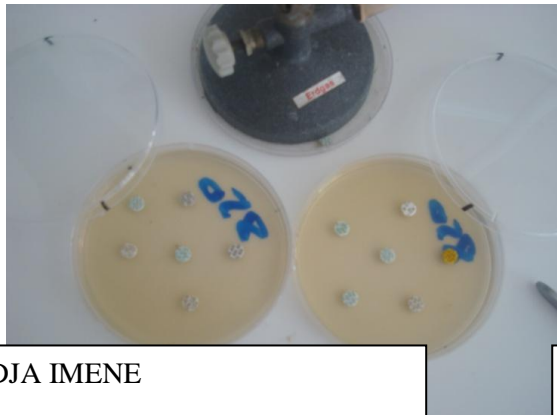
Réalisation de la suspension 0.5MF



l'ensemencement par l'écouvillon

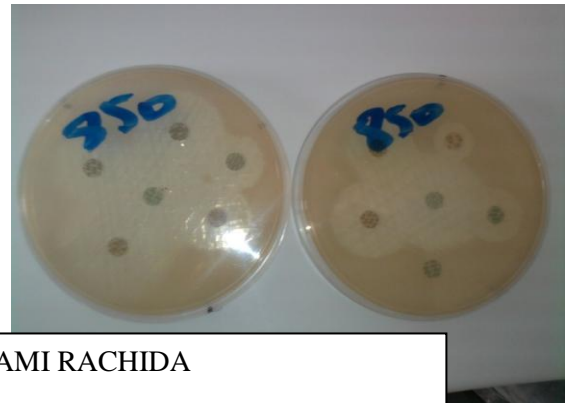


Dépos des disques d'antibiotiques par une pince ou par un distributeur d'antibiotiques



KHODJA IMENE

ema.pharma2@gmail.com



CHAMI RACHIDA

rachidapharma42@gmail.com

## Résumé

*A.baumannii* est un bacille à Gram négatif, présent dans l'environnement et commensale des muqueuses de l'homme. Depuis quelques années ce germe est considéré comme un pathogène opportuniste responsable d'un taux croissant d'infection nosocomiale sévère.

Les infections causées par l'*A.baumannii* sont associées à une prolongation de la durée d'hospitalisation, à une augmentation des coûts de traitement mais surtout à une morbidité et une mortalité élevées. Depuis quelques décennies *A.baumannii* pose de grands problèmes thérapeutiques partout dans le monde, sa résistance naturelle et sa capacité d'acquérir de nouvelles résistances aux antibiotiques font d'elle la bactérie pionnière dans la multirésistance. L'existence de souches résistantes à tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique humaine place l'*Acinetobacter baumannii* parmi les organismes qui menacent l'arsenal thérapeutique actuel. Les carbapénèmes ont été longtemps considérés comme le traitement de choix des infections à *Acinetobacter baumannii*.

Le traitement actuel des infections à *Acinetobacter baumannii* est sujet de controverse, l'efficacité de l'imipénème est remise en cause vu l'émergence des souches de plus en plus résistantes. La multirésistance de ce germe a conduit au regain d'intérêt pour la colistine un ancien antibiotique abandonné pour sa toxicité potentielle.

L'objectif de ce travail est d'étudier la résistance des *Acinetobacter baumannii* isolées au niveau de CHU- Franz-Fanon- BLIDA entre 2012-2017 et évaluer la place de l'imipénème et la colistine dans le traitement des infections liées à cette bactérie. Les résultats de cette étude ont montrés un taux de résistance élevé à l'imipénème.

**Mot clés :** *Acinetobacter baumannii*, multirésistance, imipénème, colistine.

## Abstract

*A.baumannii* is a bacillus with Gram negative, present in the environment and commensal of the mucous membranes of the man. For a few years, this germ has been regarded as pathogenic opportunist responsible for an increased rate of severe nosocomial infection.

The infections caused by *A.baumannii* are associated with a prolongation of the duration of hospitalization, an increase in treatment costs but especially with a high morbidity and mortality. For a few decades, *A.baumannii* poses major therapeutic problems all over the world; its natural resistance and its capacity to acquire new resistances to antibiotics make it the pioneer bacterium in multirésistance. The existence of strains resistant to all antibiotics used in human therapeutics places *Acinetobacter baumannii* among the organisms that threaten the current therapeutic arsenal.

Carbapenemes have long been regarded as the treatment of choice for *Acinetobacter baumannii* infections. The current treatment of the infections with *Acinetobacter baumannii* is controversial; the effectiveness of imipenem is questioned due to the emergence of increasingly resistant strains. The multi-resistance of this germ led to renewed interest in colistin an old antibiotic abandoned for its potential toxicity. The objective of this work is to study the resistance of *Acinetobacter baumannii* isolated at CHU Frantz-Fanon- Blida between 2012-2017 and to evaluate the place of the imipénème and the colistin in the treatment of infections related to these bacterium. The results of this study showed a high rate of resistance to the imipenem.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, multiresistance, imipeneme, colistin.



