

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



## Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de master en science de la nature et de la vie

**Option : Microbiologie**

Réalisé aux laboratoires de microbiologie du CHU de Béni Mes sous et de  
Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), ENS de Kouba

**Par**

**MINA Yousra et NAMIGANDA Victoria**

Master domicilié au laboratoire de biotechnologie, environnement et  
santé, Blida

**Thème :**

---

# Etude de l'antibiorésistance chez

# *Acinetobacter baumannii*

---

**Soutenu le 03 juillet 2018**

**Devant le jury composé de:**

<b>Mr GUITARNI D.</b>	<b>Professeur</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Président</b>
<b>Mr BOUKHATEM N.</b>	<b>M.C.A</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Examineur</b>
<b>M<sup>me</sup> MEKLAT A.</b>	<b>M.C.A</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>M<sup>me</sup> TOUATI D.</b>	<b>M.A</b>	<b>CHU de Beni essous</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Année universitaire: 2017/2018**

## **Remerciements**

Tout d'abord on remercie Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Notre plus grande gratitude va à notre promotrice Madame **MEKLAT** pour avoir accepté de nous encadrer pour notre projet de fin d'études, pour sa disponibilité et sa rigueur, la confiance qu'elle nous a accordé. Nous avons profité pendant notre stage du savoir et du savoir-faire dont nous avons pu bénéficier au cours de nos multiples échanges. On aimerait aussi la remercier pour l'autonomie qu'elle nous a accordée, ses précieux conseils et ses critiques qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

On est tout particulièrement reconnaissants envers notre co-promotrice le Docteur **TOUATI** qui nous a chaleureusement accueillis dans le laboratoire de microbiologie de CHU de Béni Messous et qui nous a suivi de près pour la réalisation de notre travail.

On voudrait également remercier les membres du jury,

Monsieur **GUETARNI**

Permettez-nous de vous remercier Monsieur, pour ce grand honneur que vous nous faites, en acceptant de présider le jury de notre thèse d'exercice.

Monsieur **BOUKHATEM**

De même, pour avoir consenti d'examiner et d'évaluer notre travail et qui nous fait l'honneur de participer à notre soutenance.

On adresse nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et tout le personnel du laboratoire central du CHU de Béni Messous de même que ceux de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba qui de par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont bien voulu nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.

Nous remercions infiniment, Monsieur **MOUZAOUI WALID** pour ses indications, ses lectures et corrections qu'il a apporté à notre rapport.

Aussi, nous avons à marquer notre reconnaissance et gratitude à l'administration et à l'ensemble du corps enseignant de l'Université de SAAD DAHLAB BLIDA 1 pour leurs efforts à nous garantir la continuité et l'aboutissement de ce programme de Master.

Enfin, nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail. Qu'ils trouvent tous ici l'expression de notre gratitude et notre sincère considération.

## *Je dédie ce travail*

### *A ma mère*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

### *A mon père*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

### *A mes frères et sœurs*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. et qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A Mon cher petit frère Marwane Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité*

### *A mes chères amies Soumia et Yousra*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Une spéciale dédicace a eux qui comptent énormément pour moi, et pour qui je porte beaucoup de tendresse et de respect.*

*A mon binôme Victoria*

*En souvenir des moments agréables que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail. Merci d'être à mes côtés dans les moments les plus difficiles.*

*A toute ma famille mes tantes, mes oncles, mes chers cousins et mes amis.*

*A l'équipe de la pharmacie Bouzit je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des Frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.*

***MINA YOUSRA***

*Je dédie ce travail*

*A ma mère*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma grand-mère*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Mes frères et sœurs (Gerald, Matthías, Prossy Sarah, Flavía)*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous et qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*À mon neveu Aaron, je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité*

*A mon binôme Yousra*

*En souvenir des moments agréables que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail. Un grand merci pour toi.*

*A toute ma famille. A tous mes amis Patrícia, Benazir, Halimah, Grace, Faith, Esther, Nabirah.*

**NAMIGANDA VICTORIA**

## Résumé

La présente étude concerne l'isolement de plusieurs souches d'*Acinetobacter baumannii* à partir de divers prélèvements analysés au Laboratoire Central de Microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Béni Messous, la détermination du profil de résistance de ces souches et l'évaluation du potentiel antagoniste de quelques souches d'actinobactéries contre les souches d'*A. baumannii* isolées.

Vingt-deux souches d'*A. Baumannii* ont été isolées et identifiées en utilisant les techniques conventionnelles de bactériologie (morphologie, coloration de Gram et tests d'oxydase et de catalase) et les caractères biochimiques à l'aide de galeries API 20 NE. Une prédominance d'*A. baumannii* dans les prélèvements pulmonaires (31,8%) et dans le service de réanimation (50%) a été observée.

La sensibilité aux antibiotiques et la détection des phénotypes de résistance ont été réalisées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Onze souches d'*A. baumannii* étaient résistantes à l'ensemble des antibiotiques testés à l'exception de la colistine et produisent des métallo-carbapénémases.

Le potentiel antagoniste de soixante-deux souches d'actinobactéries cultivées sur le milieu ISP2 a été évalué contre les souches d'*A. baumannii* par la technique des cylindres d'agar. Les résultats ont montré que dix-neuf souches d'actinobactéries (soit 30,6 %) sont actives contre au moins une souche d'*A. baumannii*. L'activité antibactérienne obtenue par les souches de *Saccharothrix* a été plus forte que celle obtenue par les autres genres d'actinobactéries. Une seule souche de *Streptomyces* (WAB9) s'est montrée active avec un spectre d'activité qui touche la majorité des souches d'*A. baumannii* testées.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de deux antibiotiques (la colistine et le produit W9 sécrété par la souche WAB9) contre les vingt-deux souches d'*A. baumannii* ont été déterminées par la méthode des dilutions en milieu gélosé. Toutes les souches d'*A. baumannii* testées étaient sensibles à la colistine avec des CMI qui ne dépassent pas 1 µg/ml, alors que la CMI de l'antibiotique W9 était largement supérieure avec une concentration de l'ordre de 64 µg/ml. Pour conclure, toutes les souches sont sensibles à la colistine et les *Saccharothrix* ou *Streptomyces* avec une forte activité antimicrobienne présente une mesure alternative contre *A. baumannii*.

**Mots clés :** *Acinetobacter baumannii*, antibiotiques, antibioresistance, actinobactéries, antagonisme, concentrations minimales inhibitrices.

## Abstract

The present study concerns the isolation several *Acinetobacter baumannii* isolates from the diverse samples analyzed in the Microbiology Laboratory of the Beni Messous University Hospital Center, the determination of the antibiotic resistance profile of these strains and the evaluation of the antagonistic potential of some actinobacterial species against *A. baumannii* strains isolated.

Twenty two *A. baumannii* strains were isolated and identified using the conventional technics of bacteriology (Morphology, Gram stain, catalase test, and oxidase test) and biochemical characteristics by API 20 NE. A predominant number of *A. baumannii* strains were isolated from pulmonary samples (31.8%) and from the intensive care unit (50%). Antibiotic sensitivity and detection of resistance phenotypes were performed by the diffusion method on agar medium. Eleven strains were resistant to all antibiotics tested except colistine and also produced Metallo-carbapenemase.

The antagonistic potential of sixty two actinobacterial isolates cultured on ISP2 medium was evaluated against *A. baumannii* strains by the agar cylinder method. The results obtained showed that nineteen strains (36.65 %) were active against at least one *A. baumannii* strain. The antibacterial activity against *A. baumannii* obtained by *Saccharothrix* was very strong compared to other actinobacterial strains from other genera. A single isolate of *Streptomyces* (WAB9) was active with a spectrum of activity that affects most of the *A. baumannii* strains tested.

The minimum inhibitory concentrations (MIC) of two antibiotics (colistine and a product W9 secreted by the isolate WAB9) against twenty two strains of *A. baumannii* were determined by dilution method on Agar medium. All *A. baumannii* strains were sensitive to colistine with MICs not exceeding 1µg/ml, while the MIC of antibiotic W9 was much higher with a concentration of about 64 µg/ml.

To conclude, all the isolates tested are sensitive to colistine, and the *Saccharothrix* or *Streptomyces* species with a strong antimicrobial activity present an alternative measure against *A. baumannii*.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, antibiotics, antibioresistance, actinobacteria, antagonism, minimum inhibitory concentrations.

## الملخص

تتناول الدراسة الحالية عزل العديد من سلالات *A. baumannii* من عينات مختلفة تم تحليلها في المختبر لعلم الأحياء المجهرية في مركز المستشفى الجامعي بني مسوس ، وتحديد ملامح مقاومة هذه السلالات وتقييم الإمكانيات العدائية. بعض سلالات من الأكتينوبكتيريا ضد سلالات *A. baumannii* معزولة.

اثنين وعشرين سلالات من *A. baumannii* تم عزلها وتحديدتها باستخدام التقنيات التقليدية لعلم البكتيريا (مورفولوجيا ، تلويين جرام وأكسيداز و الكاتالاز) والشخصيات الكيميائية الحيوية باستخدام معارض API20NE. وقد لوحظت هيمنة *A. baumannii* في العينات الرئوية (31,8%) وفي قسم الإنعاش (50%).

تم تنفيذ الحساسية للمضادات الحيوية والكشف عن أنماط المظهر الظاهري للمقاومة بواسطة طريقة الانتشار على وسط أجار. كانت إحدى عشر سلالة من *A. baumannii* مقاومة لجميع المضادات الحيوية التي تم اختبارها باستثناء الكولستين، وأنتجت مركبات كاربابينيميز المعدنية.

تم تقييم الإمكانيات العدائية لستة وثلاثين سلالة من البكتيريا المستزرعة على وسط ISP2 ضد سلالات *A. baumannii* باستخدام تقنية اسطوانة أجار. وأظهرت النتائج أن تسعة عشر سلالة من البكتيريا (أي 30,6%) ناشطة ضد سلالة واحدة على الأقل *A. baumannii*. كان النشاط المضاد للجراثيم الذي تم الحصول عليه من سلالات *Saccharothrix* أكبر من تلك التي حصلت عليها أنواع أخرى من البكتيريا. سلالة واحدة من (WAB9) ناشطة مع مجموعة من الأنشطة التي تؤثر على معظم سلالات *A. baumannii* المجربة.

الحد الأدنى من تركيزات المثبطة من اثنين من المضادات الحيوية (كولستين والمنتج W9 يفرز من سلالة WAB9) ضد اثنين وعشرين سلالات من *A. baumannii* تم تحديدها بواسطة طريقة التخفيف في وسط أجار. جميع السلالات *A. baumannii* المختبرة حساسة للكوليسيتين مع الحد الأدنى لا يتجاوز 1 ميكروغرام / مل ، في حين أن الحد الأدنى من المضادات الحيوية W9 كان أعلى بكثير مع تركيز حوالي 64 ميكروغرام / مل.

الكلمات الرئيسية: *Acinetobacter baumannii* ، المضادات الحيوية ، المقاومة للمضادات الحيوية ، *actinobactéries* ، العداء ، الحد الأدنى من تركيز المثبطة.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Micrographie d' <i>Acinetobacter baumannii</i> après coloration de Gram.....	4
<b>Figure 2.</b> Illustration des étapes de la méthode des cylindres d'agar .....	26
<b>Figure 3.</b> Les taux de cultures positives et cultures négatives .....	27
<b>Figure 4.</b> Aspect de colonies sur les milieux d'isolement .....	27
<b>Figure 5.</b> Observation microscopique d' <i>Acinetobacter</i> après coloration de Gram (grossissement X 100) .....	28
<b>Figure 6.</b> Le taux d'isolement d' <i>A. baumannii</i> par rapport à d'autres espèces bactériennes .	29
<b>Figure 7.</b> Répartition des souches d' <i>A. baumannii</i> selon la nature des prélèvements .....	30
<b>Figure 8.</b> Répartition des souches <i>A. baumannii</i> par service .....	31
<b>Figure 9.</b> Résultat de test de l'antibiogramme .....	32
<b>Figure 10.</b> Taux de résistance d' <i>A. baumannii</i> aux bêta-lactamines .....	32
<b>Figure 11.</b> Taux de résistance d' <i>A. baumannii</i> aux autre classes d'antibiotiques .....	33
<b>Figure 12.</b> Test de double disque pour confirmation de BLSE chez <i>A. baumannii</i> .....	34
<b>Figure 13.</b> Résultat de test à la claxacilline .....	34
<b>Figure 14.</b> Résultat du test à l'EDTA .....	35
<b>Figure 15.</b> Résultat de test Hodge .....	35
<b>Figure 16.</b> Spectre d'action des actinobactériens produits par les souches d'actinobactéries contre les souches d' <i>A. baumannii</i> .....	38

## Liste de tableaux

<b>Tableau 1.</b> Principaux antibiotiques et leur classification .....	5
<b>Tableau 2.</b> Antibiotiques actifs sur <i>A. baumannii</i> .....	7
<b>Tableau 3.</b> Béta –lactamase décrites chez <i>A. baumannii</i> .....	9
<b>Tableau 4.</b> Facteurs de virulences d' <i>A. baumannii</i> .....	12
<b>Tableau 5.</b> Exemples d'antibiotiques actif sur <i>A. baumannii</i> et produits par des actinobactéries .....	14
<b>Tableau 6.</b> Les différents prélèvements analysés .....	15
<b>Tableau 7.</b> Donnés sur les souches d'actinobactéries .....	16
<b>Tableau 8.</b> Antibiotiques testés contre les souches d' <i>A. baumannii</i> .....	16
<b>Tableau 9.</b> Répartition des souches d' <i>A. baumannii</i> selon la nature des prélèvements .....	29
<b>Tableau 10.</b> Répartition des souches d' <i>A. baumannii</i> par service .....	30
<b>Tableau 11.</b> Profil de résistance des souches d' <i>A. baumannii</i> aux antibiotiques testés .....	31
<b>Tableau 12.</b> Phénotypes de résistance d' <i>A. baumannii</i> .....	36
<b>Tableau 13.</b> Activité antibactériennes des souches d'actinobactéries contre les souches d' <i>A. baumannii</i> .....	37
<b>Tableau 14.</b> Résultats des CMI de la colistine et de l'antibiotique W9 contre <i>A. baumannii</i>	39

## Liste des abréviations

ADH	Antidiuretic hormone
AK	Amikacine
AMPC	Beta-lactamase de type céphalosporinase
ARNr16S	Acide ribonucléique ribosomique 16S
ATCC	American Type Culture Collection
<i>bla ampC</i>	Gène codant la β-lactamase de type AmpC.
<i>bla OXA</i>	Gène codant OXA bêta-lactamases (classe D)
BLSE	Bêta -lactamase à spectre étendu
BMR	Bactérie multi-résistance
C1G	Céphalosporine de 1 <sup>er</sup> génération
C2G	Céphalosporine de 2 <sup>ème</sup> génération
C3G	Céphalosporine de 3 <sup>ème</sup> génération
CARB	Carbénicillines bêta-lactamase
CarO	Gène codant pour la porine CarO
CarOb	Gène codant pour la porine CarOb
CAZ	Céftazidime
CHU	Centre hospitalier universitaire
CIP	Ciprofloxacine
CL	Colistine
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
CTX-M	Céfotaxime hydrolyzing capabilities 1
DO	Doxycycline
EDTA	Ethylène Diamine Tétra-Acétique
FEP	Céfépime
GES	Guiana extended-spectrum
GLU	Glutaraldéhyde ou Acide glutamique
GM	Gentamycine
<i>gyrA</i>	Gene encoding the enzyme; DNA gyrase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Péroxyde d'hydrogène
Test de HODGE	Détection des carbapénèmase
HPLC	High-performance liquid chromatography (Chromatographie en phase liquide à haute performance)
IMP	Imipenème
IPA1	Isopropylamine
<i>ISAbA-1</i>	Séquence d'insertion acide abscissic

ISP2	Isoprenaline
KPC	Klebsiella pneumoniae carbapenamase
LBSM	Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens
LCR	Liquide céphalo-rachidien
MBR	methylene blue, reduced (Bleu de méthylène)
MDR	Multi-Drug Resistant
MF	Microfarad
MH	Mueller-Hinton
MβL	Métallo-béta-lactamase
NaCl	Chlorure de sodium
NDM	N-dodecyl morpholine
NO <sub>3</sub>	Nitrate
OXA	Oxacillin hydrolyzing capabilities
ParC	Gene encoding the enzyme; topoisomerase IV
PER-1	Pseudomonas extended resistant
PIP	Pipéracilline
PLP	Protéines de liaison aux pénicillines
PNPG	P-Nitrophenylglycerol
S1	Stratum 1
SCO-1	Streptomyces hygroscopicus
SHV-12	Sulphydryl variable
SIM	Single-minded homolog
Sp	Espèce
SXT	Cotrimoxazole
TCC	Ticarcilline+Acide clavulanique
TEM	Temoneira
TIC	Ticarcilline
TM	Tobramycine
TSI	Triple Sugar Iron agar
URE	Diamide of carbonic acid
VEB-1	Vietnam extended-spectrum β-lactamase
VIM	Verona integron-encoded metallo-β-lactamase
W9	2-amino-N-(2-amino-3-phenylpropanoyl)-N-hydroxy-3-phenylpropanamide
WAB9	<i>Streptomyces</i> sp

## Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction ..... 1**

### Partie synthèse bibliographique

1. Généralités .....	3
1.1. Historique et classification d' <i>Acinetobacter</i> .....	3
1.2. Habitat .....	3
<b>2. Caractéristiques bactériologiques .....</b>	<b>4</b>
<b>3. Les antibiotiques et <i>Acinetobacter baumannii</i> .....</b>	<b>5</b>
3.1. Définition des antibiotiques .....	5
3.2. Les antibiotiques actifs sur <i>A. baumannii</i> .....	6
3.3. Résistance d' <i>A. baumannii</i> aux antibiotiques .....	7
3.3.1. Résistance naturelle .....	7
3.3.2. Résistance acquise .....	8
3.3.3. Résistance aux bêta-lactamines .....	8
3.3.4. Résistance aux aminosides .....	10
3.3.5. Résistance aux quinolones .....	11
3.3.6. Résistance aux autres antibiotiques .....	11
<b>4. Mode de transmission d'<i>A. baumannii</i> .....</b>	<b>11</b>
<b>5. Facteurs de virulence d'<i>A. baumannii</i> .....</b>	<b>11</b>
<b>6. Infections à <i>A. baumannii</i> .....</b>	<b>12</b>
<b>7. La prévention contre la propagation et l'émergence d'<i>A. baumannii</i> .....</b>	<b>13</b>
<b>8. Les actinobactéries .....</b>	<b>13</b>
8.1. Généralité sur les actinobactéries .....	13
8.2. Rôle des actinobactéries dans la production des antibiotiques .....	14

8.3. Les antibiotiques produits par les actinobactéries et actifs sur <i>A. baumannii</i> .....	14
---	----

## **Partie matériel et méthodes**

<b>I. Matériel .....</b>	<b>15</b>
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>17</b>
1. Conduite à tenir devant les différents prélèvements .....	17
1.1. Mise en culture des prélèvements.....	17
1.2. Identification d' <i>Acinetobacter</i> .....	17
1.2.1. Examen macroscopique .....	17
1.2.2. Examen microscopique .....	17
1.2.3. Coloration de Gram .....	17
1.2.4. Test de la catalase .....	18
1.2.5. Test d'oxydase .....	18
1.2.6. Détermination de la voie d'attaque du glucose .....	19
1.2.7. Galerie d'identification API 20 NE .....	19
2. Antibiogramme.....	20
2.1. Préparation de l'inoculum .....	20
2.2. Ensemencement.....	21
2.3. Application des disques d'antibiotiques.....	21
2.4. Conditions d'incubation .....	21
2.5. Lecture.....	21
3. Tests complémentaires de l'antibiogramme.....	21
3.1. Mise en évidence de la résistance aux Céphalosporinase de 3 <sup>ème</sup> génération .....	22
3.1.1. Recherche d'une BLSE (Test du double disque).....	22
3.1.2. Recherche d'une céphalosporinase par le test à la cloxacilline.....	22
3.2. Détection des métallos-carbapénèmases .....	23
3.2.1. Test à l'EDTA .....	23
3.2.2. Test de Hodge .....	23
4. Conservation des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	24
5. Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches d'actinobactéries .....	24
5.1. Préparation des cultures d'actinobactéries .....	24
5.2. Méthode de cylindres d'agar .....	25
6. Détermination de CMI de la colistine et W9.....	26

## Partie résultats et discussion

<b>Résultats .....</b>	<b>27</b>
<b>1. Diagnostic microbiologique .....</b>	<b>27</b>
1.1. Résultats de l'isolement.....	27
1.2. Résultats de l'étude morphologique .....	27
1.3. Résultats des tests biochimiques .....	28
<b>2. Taux d'<i>A. baumannii</i> dans les prélèvements.....</b>	<b>29</b>
2.1. Répartition des souches d' <i>A. baumannii</i> selon la nature des prélèvements .....	29
2.2. Répartition des souches d' <i>A. baumannii</i> selon les services .....	30
<b>3. Profil de résistance d'<i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques.....</b>	<b>31</b>
3.1. Résultat de l'antibiogramme.....	31
3.2. Taux de résistance d' <i>A. baumannii</i> aux antibiotiques.....	32
<b>4. Résultats des tests complémentaires de l'antibiogramme .....</b>	<b>33</b>
<b>5. Évaluation du potentiel antagoniste des 62 souches d'actinobactéries .....</b>	<b>36</b>
<b>6. Détermination des CMI de la colistine et l'antibiotique W9 .....</b>	<b>39</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>47</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>57</b>

## Introduction

Les espèces bactériennes appartenant au genre *Acinetobacter*, et plus particulièrement *Acinetobacter baumannii*, ont suscité une attention croissante au cours de ces dernières années, d'une part, en raison de leur potentiel à provoquer des infections graves, et d'autre part, pour leur aptitude à développer une résistance rapide aux antibiotiques. En effet, en l'espace de 40 ans, cette espèce est passée de statut de « bactérie sans intérêt » car peu pathogène et sensible à la plupart des antibiotiques commercialisés à cette époque, à celui de bactérie pathogène capable d'acquérir facilement une multi-résistance aux antibiotiques (Decré, 2012).

La majorité des infections causées par *A. baumannii* sont contractées en milieu hospitalier, le plus souvent chez les sujets fragilisés hospitalisés en soins intensifs ou en chirurgie (McConnell *et al.*, 2012). Dans les années 1970, la pneumonie acquise à l'hôpital était l'infection la plus couramment provoquée par ce micro-organisme. Récemment les infections impliquant le système nerveux central, la peau et les tissus mous et osseux sont apparues comme étant très problématiques pour certaines institutions (Peleg *et al.*, 2008).

La capacité de cet agent pathogène opportuniste à survivre dans l'environnement dans des conditions défavorables pendant des périodes prolongées peut avoir contribué à son comportement endémique et épidémique. Ceci est attribué à quelques facteurs importants, y compris la résistance de cet agent aux désinfectants, à la dessiccation, à la privation nutritionnelle dans l'environnement humide et à la formation de biofilm (Obeidat *et al.*, 2014). De plus, la présence persistante d'*A. baumannii* dans les secteurs hospitaliers lui permet également d'entrer en contact avec des antibiotiques exerçant une pression sélective qui fait apparaître des clones performants présentant des caractéristiques de résistance aux antibiotiques (Gonzalez-Villoria et Valverde-Garduno, 2006). Récemment, des souches d'*A. baumannii* résistantes à tous les antibiotiques connus ont été signalées, et face à cet événement critique, la communauté internationale des soins de santé devrait agir rapidement (Lee *et al.*, 2017).

Au vu de la résistance des bactéries aux antibiotiques, les travaux actuels sont orientés en partie vers la recherche de nouveaux antibiotiques. Les actinobactéries occupent une place de choix parmi les microorganismes intéressants dans divers domaines en particulier le domaine médical (George *et al.*, 2012; Solecka *et al.*, 2012). Elles sont capables de sécréter de nombreuses molécules bioactives dont les plus importantes sont les antibiotiques (Jiang *et al.*, 2016).

Notre étude vise à caractériser les mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les souches d'*A. baumannii* isolées à l'hôpital de Béni-Messous (Alger) et à analyser l'activité antagoniste des actinobactéries contre ces souches pathogènes. Pour développer ces aspects, nous avons adopté la méthodologie suivante:

- Isolement et identification des souches d'*A. baumannii* à partir de prélèvements pathologiques divers.
- Étude de la résistance des souches d'*A. baumannii* aux antibiotiques.
- Caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines.
- Evaluation du potentiel antagoniste d'une collection d'actinobactéries contre *A. baumannii*
- Détermination des concentrations minimales inhibitrices de la colistine et de l'antibiotique W9 sécrété par *Streptomyces* sp. WAB9.

## 1. Généralités

### 1.1. Historique et classification d'*Acinetobacter*

*Acinetobacter* provient de la reclassification de plusieurs genres isolés de différents habitats. En effet, l'histoire du genre *Acinetobacter* débute au début du 20<sup>ème</sup> siècle, en 1911, quand Beijerinck, un microbiologiste allemand, a décrit un organisme appelé *Micrococcus calcoaceticus* qui était isolé à partir de prélèvement de sol (Baranzelli *et al.*, 2013). Au cours des décennies suivantes, des organismes similaires à *Micrococcus calcoaceticus* ont été décrit par les autres auteurs et assigné à différents genres (Bergogne-Bérézin *et al.*, 1987; Peleg *et al.*, 2008). C'est en 1954 que Brisou et Prévost proposent la désignation actuelle du genre *Acinetobacter* (du grec *akinetos* « Incapable de bouger »). Une avancée majeure dans l'histoire du genre *Acinetobacter* a été réalisée en 1986 grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimont qui est parvenus à distinguer 35 espèces d'*Acinetobacter* (Bergogne-Bérézin *et al.*, 1987) dont 6 espèces importantes en clinique (*A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffli* et *A. baumannii*). Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la famille des *Moraxellaceae* qui regroupe les genres *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Psychrobacter* (Peleg *et al.*, 2008). Actuellement *A. baumannii* est classé comme suit:

- Domaine: *Bacteria*
- Embranchement: *Proteobacteria*
- Classe: *Gamma proteobacteria*
- Ordre: *Pseudomonadale*
- Famille: *Moraxellaceae*
- Genre: *Acinetobacter*
- Espèces: *Acinetobacter baumannii* (Euzéby, 2008).

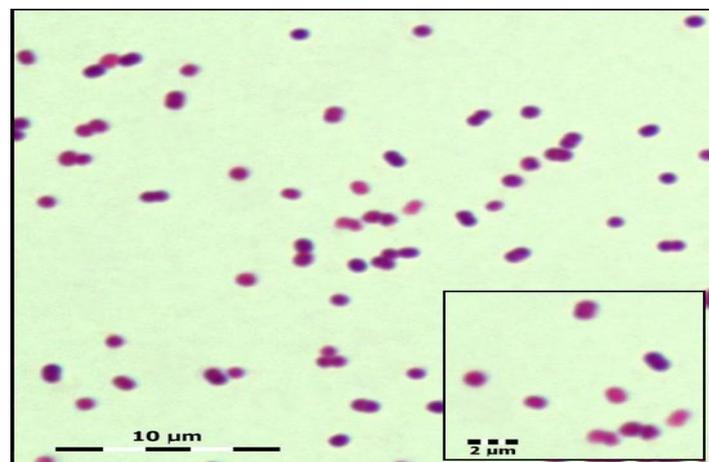
### 1.2. Habitat

Les *Acinetobacter* sont des bactéries ubiquistes de l'environnement naturel et hospitalier, présents dans le sol, les milieux aquatiques (eau et effluents), ils peuvent survivre à la fois sur des surfaces humides ou sèches (Avril *et al.*, 2000). Elles sont également isolées des végétaux, des animaux et des produits alimentaires (lait, viande carcasses de poulets éviscérés, et autres produits dérivés de volailles) (Freney *et al.*, 2007). Chez l'homme, les

*Acinetobacter* autre qu'*A. baumannii* sont fréquemment isolés de la peau, de la salive, de l'urine, de conjonctive et plus particulièrement des localisations humides (aines, fosses antécubitales, creux axillaires, espaces interdigitaux). Ces bactéries font partie de la flore résidente normale de la peau saine chez l'homme (Freney *et al.*, 2007). On estime que 25 % des sujets sains seraient porteurs d'*Acinetobacter* sur leur peau. Les plus fréquemment isolés sont *Acinetobacter lwoffii* (47 %), *A. johnsonii* (21 %) et *A. radioresistens* (12 %) alors que *A. baumannii* ne représente que 1 % des isolats (Courvalin et Leclercq, 2012).

## 2. Caractéristiques bactériologiques

*A. baumannii* croit bien sur des milieux solides couramment utilisés dans les laboratoires de microbiologie clinique, comme la gélose nutritive, la gélose au sang de mouton ou la gélose de trypto-caséine soja (Hamuel *et al.*, 2011) à une température de 35°C. Les colonies sont non pigmentées, lisses et parfois mucoïdes (avec un diamètre de 1,5 à 3 mm). Les souches d'*A. baumannii* ont été identifiées comme étant des coccobacilles (**Figure 1**), immobiles, Gram négatif (Bergogne-Bérézin *et al.*, 1987), difficiles à décolorer ce qui peut conduire à une identification erronée comme cocci Gram positif (Peleg *et al.*, 2008). Physiologiquement, ils sont aérobie stricte, catalase positive, oxydase négative, indole négatif, nitrate réductase négatif et ne fermentent pas les sucres (Peleg *et al.*, 2008).



**Figure 1.** Micrographie d'*A. baumannii* après coloration de Gram (Humphreys et Towner, 1997)

**3. Les antibiotiques et *Acinetobacter baumannii***

**3.1. Définition des antibiotiques**

Le terme « antibiotique » est dérivé des mots grecs « anti » qui veut dire contre et « bios » qui signifient la vie, c’est-à-dire, « contre la vie ». Au sens large, un antibiotique est une substance qui peut être naturelle, synthétique ou semi-synthétique inhibant ou tuant les germes pathogènes à faible concentration (Barka *et al.*, 2016). Les antibiotiques sont classés en fonction de leur origine, leur structure et leurs mécanismes d’action (Ebimiewei et Ibemologi, 2016). Il existe sept classes majeures d’antibiotiques utilisés en milieu clinique: les bêta-lactamines, les glycolipides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfamides (**Tableau 1**).

**Tableau 1.** Principaux antibiotiques et leur classification (Joffin et Leyral, 2004 ; Ebimiewei et Ibemologi, 2016)

Classes d'antibiotique	Exemples		
<b>Aminosides</b>	Streptomycine, kanamycine, gentamycine, tobramycine, amikacine		
<b>β-lactamines</b>	Noyau de type	Classe	Exemples
	<b>Pénicilline</b>	<b>Pénams</b>	Penicilline G, Aminopénicillines (pénicillines A): ampicilline, amoxicilline... Carboxypénicillines (ou acyluréidopénicillines):pipracilline... Amidinopénicillines: mécilinam Isoxazolypénicillines (pénicillines M): oxacilline
		<b>Carbapénèmes</b>	Imipénème, ertapénème, doripénème, méropénème
		<b>Oxapénèmes</b>	(= Clavams): acide clavulanique
	<b>Céphalosporine</b>	1 <sup>er</sup> génération (C1G)	Céfadroxil, céfalexine, céfazoline, céfalotine
		2 <sup>e</sup> génération (C2G)	Céfaclor, céfuroxime, céfotétan, céfoxitime...
		3 <sup>e</sup> génération (C3G)	Céfixime, céfotaxime, céfpodoxime, céftazidime, céftibuten, céftriaxone, céfopérazone...
		4 <sup>e</sup> génération (C4G)	Céfépime, cefpirome,...

## Suite du tableau 1.

Classes d'antibiotique	Exemples		
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>	<b>Céphalosporine</b>	5 <sup>e</sup> génération (C5G)	Ceftaroline...
	<b><math>\beta</math>-lactame seul</b>	<b>Monobactames</b>	Aztréonam
<b>Fosfomycines</b>	Fosfomycine		
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine, teicoplanine		
<b>Imidazolés (5-nitro-)</b>	Métronidazole		
<b>Macrolides et apparentés</b>	<b>Macrolides vrais</b>	Erythromycine, spiramycine, josamycine	
	<b>Lincosamides</b>	Clindamycine, lincomycine	
	<b>Streptogramines</b>	Pristinamycine, virginiamycine	
	<b>Kétolides</b>	Télithromycine	
<b>Nitrofuranes</b>	Nitrofurantoïne		
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol		
<b>Polypeptides</b>	Colistine, bacitracine, polyxine		
<b>Quinolones</b>	1 <sup>er</sup> génération: acide nalidixique 2 <sup>e</sup> génération (fluoroquinolones): norfloxacin, ciprofloxacine...		
<b>Sulfamides et diamino-2-4-pyrimidines (Sulfones)</b>	Sulfaméthoxazole Triméthoprime (le cotrimoxazole est l'association de ces deux molécules)		
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline, minocycline, tigécycline		
<b>Oxazolidinones</b>	Linézolide		
<b>Lipopeptides</b>	Daptomycine		

3.2. Les antibiotiques actifs sur *A. baumannii*

Les antibiotiques utilisés pour le traitement des infections par *A. baumannii* appartiennent à plusieurs familles et agissent avec des mécanismes différents (**Tableau 2**) (Nukaga *et al.*, 2003).

**Tableau 2.** Antibiotiques actifs sur *A. baumannii* (Yala *et al.*, 2001)

Familles	Antibiotiques	Mode d'action
Béta-lactamines	Ticarcilline Imipénème Céftazidime	Les béta-lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (action bactéricide)
Aminosides	Gentamycine Amikacine	Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la sous unité 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne (action bactéricide)
Polymyxine	Colistine	Agit au niveau de la membrane cytoplasmique bactérienne entraînant l'éclatement de la bactérie (action bactéricide)
Quinolone	Ciprofloxacine	Inhibe la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe (ADN-ADN gyrase) en empêchant la réplication et la transcription de l'ADN bactérien (action bactériostatique)

### 3.3. Résistance d'*A. baumannii* aux antibiotiques

La diversité des mécanismes de résistance 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) (Decré, 2012).

#### 3.3.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle est celle que développe un agent infectieux contre un antibiotique donné sans jamais avoir été mis en contact avec celui-ci. Il s'agit alors d'un marqueur d'identification de la bactérie (Decré, 2012).

### **A. Résistance naturelle aux bêta-lactamines**

Les souches d'*A. baumannii* sont naturellement résistantes à la pénicilline G, à l'amoxicilline et à la céphalosporine de première, deuxième et troisième génération à l'exception de la céftazidime (Bou et Martinez-Beltran, 2000). *A. baumannii* possède aussi naturellement un gène codant pour une oxacillinase et résiste contre l'oxacilline (Heritier *et al.*, 2005). Il présente également une imperméabilité naturelle associée à une pompe à efflux (Sato et Nakae, 1991; Damier-Piolle, 2008).

### **B. Résistance au chloramphénicol**

*A. baumannii* est naturellement résistante au chloramphénicol. La résistance à haut niveau observée chez certains *A. baumannii* est due à la production d'une acétyl-transférase (Joly-Guillou et Decré, 2013). Ce mécanisme peut être combiné à l'action des systèmes d'efflux (Decré, 2012).

### **C. Résistance au triméthoprim**

Cet espèce résiste naturellement et à bas niveau au triméthoprim à cause d'un gène de résistance porté par un plasmide. De plus, le triméthoprim est un substrat pour les systèmes d'efflux (Wieczorek *et al.*, 2008).

## **3.3.2. Résistance acquise**

La résistance acquise est la résistance développée par un agent infectieux contre un antibiotique auquel il était auparavant sensible. Elle ne touche que certaines souches au sein d'une espèce normalement sensible à l'antibiotique concerné. *A. baumannii* a développé une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques (Joly-Guillou et Decré, 2013).

### **3.3.3. La résistance acquise aux bêta-lactamines**

#### **A. Mécanismes de résistance enzymatique aux bêta-lactamines**

Les bêta-lactamines peuvent être inactivées par plusieurs enzymes:

**A1. Pénicillinases:** La résistance aux pénicillines à large spectre chez *A. baumannii* est due à différentes pénicillinases plasmidiques (Carbonne *et al.*, 2005; Poirel et Nordmann, 2006).

**A2. Céphalosporinase de type AmpC:** L'insertion d'une séquence spécifique en amont du gène *bla ampC* favorise l'expression de bêta-lactamase de type AmpC, ce qui entraîne la résistance à la céphalosporines à large spectre (Nordmann *et al.*, 2009).

**A3. Béta-lactamases a spectre étendu (BLSE):** L'acquisition de BLSE d'origine plasmidique confère une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des carbapénèmes (Sinha *et al.*, 2007; Rodriguez-Villalobos *et al.*, 2006).

**A4. Béta-lactamases conférant la résistance aux carbapénèmes:** Ce sont des enzymes appartenant aux classes A, B et D moléculaires des bêta-lactamases (**Tableau 3**). Les carbapénémases de la classe A, qui hydrolyse les carbapénèmes ont pu être identifiés chez *A. baumannii* (Joly-Guillou et Decré, 2013). Les Métallo-béta-lactamases de classe B, ont besoin d'un atome de zinc pour détruire les bêta-lactamines (Clavilier *et al.*, 2001). Cette classe d'enzyme confère une résistance à toutes les bêta-lactamines à l'exception des monobactames (Joly-Guillou et Decré, 2013). Chez *A. baumannii*, en dehors de OXA-21 qui n'hydrolyse ni les C3G, ni les carbapénèmes, les enzymes de la classe D qui ont été caractérisées sont généralement des oxacillinases à large spectre, touchant souvent les carbapénèmes (Cattoir, 2008). Ces oxacillinases pourraient donc contribuer à la résistance aux carbapénèmes par l'insertion d'une séquence *ISAbal* dans la région promotrice du gène *bla OXA* (Poirel *et al.*, 2009; Héritier *et al.*, 2009).

**Tableau 3.** Béta-lactamases décrites chez *A. baumannii* (Rodriguez-Villalobos *et al.*, 2006)

Classification d'Ambller	Type d'enzyme	Spectre d'activité
CLASSE A (Serine bêta-lactamase)	TEM - 1, -2; CARB - 5 } SCO - 1	Pénicillines+ C1G
	CTX - M - 2, -15; TEM - 92 } VEB - 1, PER - 1; SHV - 12 }	Toutes bêta-lactamines sauf céphamycines et carbapénèmes
	GES-11;-14	carbapénèmes et CG3
	KPC-2,-3,-4,-10	Toutes les bêta-lactamines
CLASSE B (Métallo-bêta-lactamase)	IMP-1,-2,-4,-5,-6,-11 VIM-2,-4; SIM-1; NDM-2	Toutes les bêta-lactamines sauf aztreonam
CLASSE C (Sérine bêta-lactamase)	AmpC + <i>ISAbal</i>	ampicilline, C1G, C2G (bas niveau) C3G, piperacilline + /ticarcilline (haut niveau)

## Suite du tableau 3

Classification d'Amblar	Type d'enzyme	Spectre d'activité
CLASSE D (Sérine béta-lactamases) Groupe I	OXA-21 OXA-23,-27,-49	ampicilline-ticarilline- piperacilline Toutes béta-lactamines carbapénèmes incluses
Groupe II	OXA-51,-66,-69	Pas d'activité apparente (sauf si <i>ISAbal</i> )
Groupe III	OXA-24,-25,-26,-37, -40,-72	Toutes béta-lactamines carbapénèmes incluses
Groupe IV	OXA-58 OXA-143	Toutes béta-lactamines carbapénèmes incluses pénicillines+carbapénèmes

**B. Mécanismes de résistance non enzymatique aux béta-lactamines**

Il existe chez *A. baumannii* des systèmes d'efflux qui présentent un large spectre de substrats incluant des antibiotiques. La surexpression de ces systèmes est associée à une augmentation du niveau de résistance aux antibiotiques (Cattoir, 2004). La résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* peut aussi résulter de modification de protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou de porine. Des études récentes ont permis de montrer que les protéines de type *CarO* (plus particulièrement *CarOb*) présentent un site spécifique de liaison à l'imipénème et peuvent donc être impliquées dans la résistance à cet antibiotique (Decré, 2012).

**3.3.4. Résistance aux aminosides**

La résistance d'*A. baumannii* aux aminosides est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices (acétylases, adénylases et phosphorylases). Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides, des transposons ou intégrons, qui facilitent leur dissémination rapide (Decré, 2012). Plus récemment, des méthylations de l'ARNr 16S par des méthylases ont été détectées. La résistance aux aminosides est également associée à des mécanismes d'efflux actifs (Joly-Guillou et Decré, 2013).

### 3.3.5. Résistance aux quinolones

Le principal mécanisme de résistance aux quinolones chez *A. baumannii* est dû à des mutations au niveau des gènes *gyrA* et *parC*, gènes à l'origine de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV. Ces enzymes permettent le maintien de l'intégrité de l'hélice pendant le processus de réplication de l'ADN. En plus, cette espèce possède des systèmes d'efflux qui jouent un rôle important dans la résistance aux fluoroquinolones (Joly-Guillou et Decré, 2013).

### 3.3.6. Résistance aux autres antibiotiques

**A. Résistance aux cyclines:** Un gène chez *A. baumannii* code pour une protéine protectrice qui favorise l'excrétion active des tétracyclines (Decré, 2012).

**B. Résistance à la colistine:** La résistance à la colistine est rare, parfois c'est le seul antibiotique disponible dans le cas des infections à *A. baumannii* résistants aux carbapénèmes (Adams *et al.*, 2009).

## 4. Mode de transmission d'*A. baumannii*

La persistance d'*A. baumannii* dans un environnement sec ou humide en fait un agent à haut risque de transmission et de dissémination en milieu hospitalier. La transmission peut se faire par contact direct ou indirect, notamment par les mains et lors de l'émission de gouttelettes en cas de colonisation des voies respiratoires. L'*A. baumannii* est capable de survivre plus longtemps sur les doigts que d'autre bacilles à Gram négatif (Nordmann, 2004; Morgan *et al.*, 2010).

## 5. Facteurs de virulence d'*A. baumannii*

Des analyses génomiques et phénotypiques récentes d'*A. baumannii* ont identifié plusieurs facteurs de virulence responsables de sa pathogénicité (Lee *et al.*, 2017). Cependant, en comparaison à d'autres pathogènes à Gram négatif, relativement peu de facteurs de virulence ont été identifiés pour *A. baumannii* (McConnell *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2017). Les facteurs de virulence d'*A. baumannii* identifiés sont résumés dans le **Tableau 4**.

**Tableau 4.** Facteurs de virulence d'*A. baumannii* (Jin *et al.*, 2011; McConnell *et al.*, 2012; Saha *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2017)

Facteur de Virulence	Rôle proposé en pathogénèse
<b>Porines</b>	Induction de l'apoptose dans les cellules hôtes, adhérence et invasion des cellules épithéliales en interagissant avec la fibronectine et se lie au facteur H dans le sérum humain, ce qui peut permettre à <i>A. baumannii</i> d'éviter la destruction par médiation de complément
<b>Lipopolysaccharide</b>	Evasion à la réponse immunitaire de l'hôte, impliqué dans la résistance au complément dans le sérum et survie dans les infections tissulaires
<b>Polysaccharide capsulaire</b>	- Echappement à la réponse immunitaire de l'hôte en bloquant l'activation du complément - croissance dans le sérum
<b>Phospholipases</b>	Aide la dissémination bactérienne par la lyse des cellules hôtes via le clivage des phospholipides présents dans la membrane de la cellule hôte et facilite l'invasion par la dégradation des phospholipides présents sur les barrières muqueuses
<b>Système d'acquisition de fer</b>	-Survie <i>in vivo</i> , destruction des cellules hôtes

## 6. Infections à *A. baumannii*

*A. baumannii* a été reconnu depuis les années 1980 comme un agent responsable d'infections liées aux soins. 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 (Bennett *et al.*, 2016). *A. baumannii* a été impliquée dans les pneumonies associées à la ventilation mécanique, les bactériémies associées à des cathéters, les infections urinaires (sur sondage ou post-opératoire), les méningites et les infections post traumatiques (Bergogne-Bérézin et Towner, 1996).

Les infections communautaires, souvent pulmonaires, sont plus fréquemment observées chez l'Homme de plus de 40 ans, en relation avec des facteurs de risque comme le tabagisme, l'alcoolisme (résidents en collectivité avec une consommation excessive d'alcool), bronchite chronique, cancer ou des antécédents de pneumonie. Elles sont graves, de durée brève avec une mortalité élevée si un traitement efficace n'est pas mis en route dès le début des signes

pulmonaires (pneumonie communautaire acquise, des expectorations purulentes, et une fièvre supérieure à 38,5 °C compliquée d'une septicémie) (Leung *et al.*, 2006; Freney *et al.*, 2007).

### **7. La prévention contre la propagation et l'émergence d'*A. baumannii***

Le laboratoire de microbiologie doit mettre en œuvre des méthodes adéquates de dépistage et de confirmation des souches d'*A. baumannii* afin d'identifier les patients porteurs. Il est essentiel d'informer rapidement le clinicien et l'équipe opérationnelle d'hygiène de la présence de patients porteurs ou infectés par de telles souches (Annie *et al.*, 1996).

Hygiène des mains et isolement des patients porteurs ou infectés: Ces mesures comprennent l'isolement en chambre individuelle et l'utilisation de gants et de blouses (Gynes et Edwards, 2005).

Désinfection du matériel de ventilation mécanique: Pour les services qui ne disposent pas de matériels à usage unique, une désinfection adéquate telle qu'exigée par le fabricant est nécessaire dans le but de prévenir contre les infections à *A. baumannii* (Manikal *et al.*, 2000).

Lutte contre la colonisation cutanée et muqueuse: Les patients qui présentent les facteurs de risques tels que une durée de ventilation mécanique supérieure à 20 jours doivent subir une surveillance de la colonisation par *A. baumannii* (Gynes et Edwards, 2005).

Limitation de l'antibiothérapie empirique à large spectre: L'antibiothérapie à large spectre est responsable d'une pression de sélection à l'origine de l'émergence de souches d'*A. baumannii* multi-résistantes (Manikal *et al.*, 2000).

### **8. Les actinobactéries**

#### **8.1. Généralité sur les actinobactéries**

Les actinobactéries sont des bactéries à Gram positif ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé dans leurs ADN. Elles sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite (Barka *et al.*, 2016). Les actinobactéries sont des microorganismes ubiquitaires, qui colonisent une grande variété d'habitats naturels (Barka *et al.*, 2016). Elles produisent des métabolites secondaires ayant des activités biologiques importantes (Marinelli et Marcone, 2011). De nombreuses molécules bioactives comme les antibiotiques et les antifongiques qui sont utilisés en thérapie humaine (Demain, 2009).

## 8.2. Rôle des actinobactéries dans la production des antibiotiques

Les actinobactéries ont une grande importance dans le domaine de la biotechnologie, en tant que producteurs de métabolites secondaires bioactifs ayant de vastes applications industrielles, médicales et agricoles (Barka *et al.*, 2015). De nombreux antibiotiques naturels ont été découverts à partir de ce groupe depuis la découverte de la streptomycine par Selman Waksman et plusieurs études indiquent leur production remarquable d'antibiotiques (Velayudham et Murugan, 2012).

Au sein de ce groupe, le genre *Streptomyces* est une source importante de métabolites secondaires, en particulier les antibiotiques. Les espèces de *Streptomyces* sont connues pour produire plus de 50% du total des antibiotiques microbiens connus ( $\geq 10\ 000$ ) (Shivlata et Satyanarayana, 2015). Les autres genres tels que *Micromonospora*, *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Nocardiosis*, sécrètent aussi de nombreux antibiotiques (plus de 2500) dont plusieurs sont importants sur le plan thérapeutique (Sarkar *et al.*, 2008; Genilloud *et al.*, 2010).

## 8.3. Les antibiotiques produits par les actinobactéries et actifs sur *A. baumannii*

Plusieurs antibiotiques produits par différents genres ont une activité sur *A. baumannii* (Tableau5).

**Tableau 5.** Exemples d'antibiotiques actifs sur *A. baumannii* et produits par des actinobactéries (Adegboye et Babalola, 2013; Chaudhary *et al.*, 2013; Barka *et al.*, 2016)

classes d'antibiotiques	Exemples d'antibiotiques	Actinobactéries
<b>Béta-Lactamines</b>	Céphalosporines	<i>Nocardia lactamdurans</i> <i>Streptomyces clauligerus</i>
<b>Aminoside</b>	Gentamycine	<i>Micromonospora purpurea</i>
<b>Cyclines</b>	Tétracyclines	<i>Streptomyces rimosus</i> <i>Streptomyces viridofaciens</i> <i>Streptomyces texasi</i> <i>Streptomyces aureofaciens</i>
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacine	<i>Pseudonocardia</i> sp.

Notre travail a été réalisé en deux parties :

La première partie a été menée au sein du laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Beni Messous. Elle comporte d'une part l'isolement et l'identification des souches d'*Acinetobacter baumannii* à partir de divers prélèvements provenant de patients externes et de ceux hospitalisé aux différents services de l'hôpital à savoir les services de réanimation, de pédiatrie et de néphrologie et d'autre part la détermination du profil de résistance des souches isolées aux antibiotiques. La deuxième partie a été réalisée au sein du laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) situé à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, qui consiste à évaluer le potentiel antagoniste des souches d'actinobactéries contre les souches isolées d'*A. baumannii*.

## **I. Matériel**

Durant notre étude 1654 prélèvements sont réceptionnés au laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Beni Messous et sont répartis comme suit (**Tableau 6**).

**Tableau 6.** Les types de prélèvements

<b>Type de prélèvement</b>	<b>Nombre</b>
Hémoculture	122
Cathéter	34
Pus (profond ou superficiel)	198
Prélèvements Pulmonaires (Expectorations, Liquide bronchique, Aspiration endo-trachéale)	310
Urines	985
Liquide céphalo-rachidien	5

- Les souches bactériennes utilisées comme témoins dans l'étude des profils d'antibio-résistances d'*A. baumannii* sont *Escherichia coli* ATCC 27853 et *Acinetobacter baumannii* (carbapénèmase positive) isolées, identifiés et étudiées au laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Beni Messous (**Annexe 1**).

- Souches d'actinobactéries utilisées dans les tests d'antagonismes contre *A. baumannii* : 62 souches d'actinobactéries provenant de la collection du laboratoire de biologie des systèmes microbiens (**Tableau 7**).

**Tableau 7.** Données sur les souches d'actinobactéries (Saker *et al*, Travaux en court)

<b>Genre</b>	<b>Nombre</b>	<b>Provenance</b>
<i>Streptomyces</i>	19	Sol, sédiments marins, rhizosphère
<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	12	
<i>Actinomadura</i>	28	
<i>Micromonospora</i>	1	
<i>Saccharomonospora</i>	1	
<i>Saccharopolyspora</i>	1	

- Les antibiotiques testés contre *A. baumannii* selon les recommandations du fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale version 2014 (**Tableau 8**).

**Tableau 8.** Antibiotiques testés contre les souches d'*Acinetobacter baumannii*

<b>Famille d'ATB</b>	<b>antibiotiques testés</b>	<b>Abréviations</b>	<b>Charges (µg)</b>
<b>Béta-lactamines</b>	Ticarcilline	TIC	75
	Pipéracilline	PIP	100
	Ticarcilline + Acide clavulanique	TCC	75/10
	Céftazidime	CAZ	30
	Imipénème	IMP	10
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacine	CIP	5
<b>Sulfamides et association</b>	Cotrimoxazole	SXT	1,25/23,75
<b>Aminosides</b>	Gentamycine	GN	10
	Amikacine	AK	30
	Tobramycine	TM	10
<b>Cyclines</b>	Doxycycline	DO	30
<b>Polypeptides</b>	Colistine	CL	CMI

- L'antibiotique 2-amino-N-(2-amino-3-phenylpropanoyl)-N-hydroxy-3-phenylpropanamide (W9) produit par la souche WAB9 de *Streptomyces* sp. (Yekour *et al.*, 2015) est purifié par HPLC au laboratoire LBSM. Cet antibiotique est utilisé dans les CMI.

## II. Méthodes

### 1. Conduite à tenir devant les différents prélèvements

#### 1.1. Mise en culture des prélèvements

La mise en culture des prélèvements reçus a été réalisée sur la gélose au sang cuit et la gélose au sang frais avec la technique de quatre séries de stries permettant l'isolement des bactéries les unes des autres. Pour les urines un ensemencement en trois stries parallèles à l'aide d'une anse calibrée à 10µl sur la gélose nutritive a été réalisé. L'incubation a été effectuée dans une étuve à 35°C (culture aérobie) pendant 18 à 48 heures (Denis *et al.*, 2011).

#### 1.2. Identification d'*Acinetobacter*

L'identification est réalisée selon les étapes suivantes :

##### 1.2.1. L'examen macroscopique des colonies

L'étude macroscopique des colonies consiste à noter les caractères suivants : taille, couleur ou pigmentation, forme, aspect de surface, aspect des bords de colonies, consistance, opacité.

##### 1.2.2. L'examen microscopique

Il consiste à observer la morphologie des cellules bactériennes et leurs modes de regroupement après coloration de Gram au microscope optique (GX100).

##### 1.2.3. Coloration de Gram

#### A. Préparation d'un frottis

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique puis prélever à l'aide d'une pipette de Pasteur une fraction d'une colonie isolée.
- Réaliser le frottis de façon à obtenir un étalement mince et homogène.

- Sécher à l'air libre jusqu'à puis fixer le frottis par 3 passages rapides et brefs de la lame au-dessus d'une flamme d'un Bec Bunsen (frottis situé sur le dessus).

### **B. Etapes de la coloration différentielle de Gram**

- Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute.
- Rejeter le violet de gentiane et recouvrir de lugol pendant 1 minute.
- Rejeter le lugol, décolorer à l'alcool 95° pendant 5 secondes et rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la lame de fuchsine diluée 1/10 pendant 1 minute puis rincer.
- Sécher à la chaleur et examiner à l'immersion (Denis *et al.*, 2011).

#### **1.2.4. Test de la catalase**

Il permet de mettre en évidence une enzyme capable de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact avec le  $H_2O_2$ . Si elles possèdent la catalase, elles dégradent l' $H_2O_2$  en eau et dioxygène visible par la formation de bulles (Prince, 2009).

#### **1.2.5. Test d'oxydase**

Il permet de mettre en évidence une enzyme, la phénylène diamine oxydase, chez des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine. Ce réactif est incolore et en présence d'oxydase, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air. Pour effectuer le test, on utilise un réactif en solution. Sur une lame de verre, on dépose un carré de papier filtre et on l'imbibe d'une solution fraîchement préparée de réactif. À l'aide d'une effilure de pipette Pasteur, on écrase une colonie de germes à étudier sur ce papier (Prince, 2009).

### 1.2.6. Détermination de la voie d'attaque du glucose sur le milieu MEVAG (Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides)

*Acinetobacter*, possède un métabolisme oxydatif, dans lequel l'oxygène est obligatoirement utilisé et peu de catabolites acides sont formés.

#### Technique

- Régénérer deux tubes de MEVAG à 45°C pour éliminer l'oxygène.
- Ajouter aseptiquement quelques gouttes d'une solution de glucose.
- Agiter pour répartir de glucose dans tout le tube.
- Solidifier les deux tubes dans l'eau froide.
- Ensemencer chaque tube par piqure central d'une colonie jeune.
- Recouvrir l'un des deux tubes de vaseline.
- Incuber les tubes à 35°C pendant 18h.

#### Interprétation

Absence de culture dans le tube avec vaseline et acidification modérée et uniquement à la surface de tube sans vaseline signifie que la bactérie a un métabolisme oxydatif (Denis *et al.*, 2011).

### 1.2.7. La galerie d'identification API 20NE

C'est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux qui permet de réaliser les tests biochimiques dont 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation. Le test oxydase constitue le 21<sup>ème</sup> effectué hors galerie. Elle comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum, et les bactéries croient seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. L'API 20 NE est utilisée selon les étapes suivantes :

- a) Préparation de la galerie. On réunit le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Ensuite, on inscrit la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. On fait sortir la galerie de son emballage individuel et on la place dans la boîte d'incubation.

- b) Préparation de l'inoculum à partir d'une culture jeune de bactéries, on prépare une suspension d'opacité égale à 0,5 MF dans 2ml d'une solution saline à 0,85%.
- c) Inoculation de la galerie : On remplit les tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, on pose la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant. On ouvre une ampoule d'API AUX medium et on y transfère environ 200µl de la suspension précédente et homogénéise avec la pipette en évitant la formation de bulles. On remplit les tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. On note que des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects. On remplit d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe. On referme la boîte d'incubation et incube à 35°C pendant 18 heures.
- d) Lecture de la galerie: Après incubation, la lecture de la galerie se fait à l'aide du tableau de lecture (**Annexe 2**) et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel (Joffin et Leyral, 2014).

## 2. Antibiogramme

L'étude de la sensibilité d'*A. baumannii* aux différentes familles d'antibiotiques a été faite par la méthode de l'antibiogramme par diffusion des disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller-Hinton. Un contrôle de qualité des antibiotiques contre des souches témoins a été réalisé en parallèle.

### 2.1. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h on racle à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. On décharge la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %. On homogénéise la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF déterminée à l'aide d'un densitomètre.

### 2.2. Ensemencement

On ensemence les boîtes par méthode d'écouvillonnage. On trempe un écouvillon stérile dans l'inoculum, puis on l'essor en le pressant fermement contre la paroi interne du tube. On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose, de haut en bas en stries serrées. On répète l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. On finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

### 2.3. Application des disques d'antibiotiques

À l'aide d'un applicateur de disques d'antibiotiques, on dépose les disques sur la gélose. Les disques ne sont pas déplacés après leur application. Les deux antibiotiques ticarcilline+acide clavulanique (TCC) et céftazidime (CAZ) ont été déposés dans la même boîte pour vérifier la présence ou l'absence d'une synergie.

### 2.4. Conditions d'incubation

L'incubation des boîtes est réalisée dans l'étuve à 35°C pendant 18 à 24h.

### 2.5. Lecture

On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle, puis on compare les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes (**Annexe 3**). En plus on vérifie la présence ou l'absence d'une image de synergie entre les deux disques d'antibiotiques TCC et CAZ. Selon les recommandations de CLSI, les bactéries sont classées dans l'une des catégories : sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I).

Les résultats de l'antibiogramme des souches isolées sont validés par les résultats des souches témoins.

## 3. Tests complémentaires de l'antibiogramme

Les tests complémentaires sont utilisés pour déterminer le type de résistance aux céphalosporines et carbapénèmes.

### **3.1. Mise en évidence de la résistance aux céphalosporines de troisième génération**

#### **3.1.1. Recherche d'une BLSE (Test du double disque)**

##### **Principe**

Le test du double disque doit se faire en l'absence d'une image de synergie entre les disques ticarcilline+acide clavulanique (TCC) et céftazidime(CAZ). Ces enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases (acide clavulanique). Le test consiste à rechercher une augmentation du diamètre d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque ticarcilline +acide clavulanique (TCC).

##### **Technique**

On procède de la même manière que pour la technique de l'antibiogramme dans la préparation de l'inoculum et de l'ensemencement, puis on place deux disques d'antibiotiques : un disque de ticarcilline +acide clavulanique (TCC) et un disque de céftazidime à une distance de 25 mm. On laisse diffuser à la température ambiante pendant une heure. Une fois l'heure écoulée, on remplace le disque de TCC par un disque de CAZ et on incube la boîte pendant 18- 24h à 35°C.

##### **Interprétation**

Le test du double disque est considéré positif quand le diamètre d'inhibition autour du disque de céphalosporine de troisième génération appliqué après pré-diffusion du disque de TCC est supérieur ou égale à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de céphalosporine de 3ème génération (CLSI 2014).

#### **3.1.2. Recherche d'une céphalosporinase par le test à la cloxacilline**

##### **Principe**

Les céphalosporinases sont suspectées lorsqu'il existe une résistance à la céphalosporine 3ème génération avec un test de synergie négatif. La cloxacilline est une substance qui permet d'inhiber ces bêta-lactamases de type AmpC (céphalosporinases) et la récupération de l'activité d'une C3G, ainsi elle confirme leur production par la souche testée.

##### **Technique**

On procède de la même manière que pour la technique l'antibiogramme dans la préparation de l'inoculum et de l'ensemencement sur gélose Muller-Hinton (additionnée de la cloxacilline à 500 mg). On dépose les disques d'antibiotiques (CAZ, TIM, PIP, TIC, FEP, IMP). L'incubation des boites se fait dans l'étuve à 35°C pendant 18 à 24 h.

**Interprétation**

La lecture se fait en comparant les diamètres obtenus sur gélose Muller- Hinton (MH) simple à ceux obtenus sur gélose MH additionnée de cloxacilline. Un résultat positif est noté lorsqu'une augmentation des diamètres d'inhibition autour des disques de céftazidime (CAZ) est obtenue sur le milieu MH+cloxacilline par rapport au MH simple (CLSI 2014).

**3.2. Détection des métallo-carbapénèmases****3.2.1. Test à l'EDTA****Principe**

Ce test consiste à rechercher la métallo-carbapénémase, inhibées par l'EDTA. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines, aux carbapénèmes et aux C3G (céftazidime).

**Technique**

La recherche de la métallo-carbapénémase est faite dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis on place les disques d'antibiotique comme suit: deux disques d'imipénème (IMP) disposés à une distance de 20 à 30 mm sur les boîtes de pétri.

On dépose 4 µl d'une solution d'EDTA sur un des disques d'imipénème et incube pendant 18-24 heures à 35°C.

**Interprétation**

On compare le diamètre d'inhibition obtenu autour d'un disque IMP+EDTA avec celui d'un disque d'imipénème seul. EDTA inhibe l'enzyme entraînant une augmentation du diamètre d'inhibition du disque IMP+EDTA par rapport au disque IMP seul (CLSI 2014).

**3.2.2. Le test de Hodge (test trèfle)****Principe**

Ce test consiste à détecter des métallo-carbapénèmases qui donnent une synergie d'activité enzymatique entre une souche productrice de carbapénémase et une souche sauvage de référence sensible.

### **Technique**

On prépare une suspension bactérienne de la souche révélatrice (sensibles à la carbapénème) : *E. coli* ATCC 27853, à 0,5 MF dans 5 ml d'eau physiologique et on dilue cet inoculum au 1/10<sup>ème</sup> (0,5 ml de la suspension de 0,5 MF + 4,5 ml d'eau physiologique). On ensemence une gélose Mueller-Hinton par écouvillonnage et on laisse sécher 3 à 5 mn. Après on dépose un disque d'imipénème au centre de la boîte et on ensemence en stries radiales (du centre à la périphérie de la boîte) la souche à tester, et avec les deux souches de référence (*A. baumannii* carbapénémase positive) et (*E. coli* ATCC 27853 : carbapénémase : négative). On incube à 35°C pendant 18 à 24 heures.

### **Interprétation**

Un test de Hodge est considéré positif quand *Escherichia coli* ATCC 27853ensemencée par écouvillonnage sur toute la surface du milieu Mueller-Hinton va pénétrer et croître dans le diamètre d'inhibition au contact d'une souche productrice de métallo-carbapénémase, en donnant un aspect d'invagination de la culture. Cette déformation du diamètre à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. coli* ATCC 27853 signe la présence d'une hydrolyse des carbapénèmes par la souche testée. Le test est considéré négatif quand il n'y a aucune modification du diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* ATCC 27853 au contact des souches étudiées (CLSI 2014).

## **4. Conservation des souches d'*Acinetobacter baumannii***

Après isolement et identification, les souches d'*A. baumannii* sont repiquées sur gélose nutritive, incubée à 35°C pendant 18h afin d'obtenir des colonies jeunes en phase de croissance. À l'aide d'une pipette Pasteur, une colonie est repiquée à partir des colonies puis ensemencée par piques centrale sur le milieu de conservation. Ce milieu est contenu dans des tubes de gélose, et porte sur chaque tube une étiquette avec les mentions suivantes ; nom de la souche, numéro de code, date de conservation. Les souches sont conservées dans des tubes bouchés et placés à température ambiante (Denis *et al.*, 2011).

## **5. Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches d'actinobactéries**

### **5.1. Préparation des cultures d'actinobactéries**

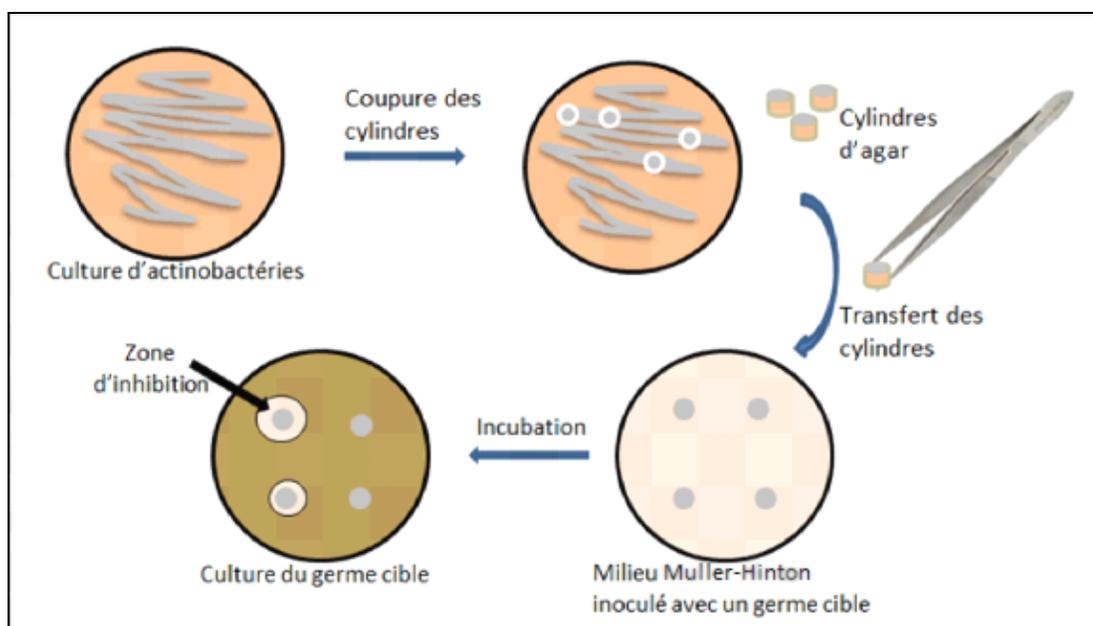
Les isolats d'actinobactéries étaient conservés dans des tubes inclinés à 4°C. La revivification de ces isolats a été réalisée par le transfert d'inoculum à partir de ces tubes sur le milieu

*International Streptomyces Project 2* (ISP2) (Shirling et Gottlieb, 1966) coulé en boîtes de Pétri (**Annexe 4**). Les boîtes de Pétri sont incubées à 30 °C pendant 10 jours.

## 5.2. Méthode de cylindres d'agar

L'activité antagoniste de 62 souches d'actinobactéries a été évaluée sur le milieu MH contre 22 souches d'*Acinetobacter baumannii* que nous avons isolé. Ce test a été réalisé par la méthode des cylindres d'agar (Patel et Brown, 1969) selon les étapes suivantes (**Figure 2**):

- a) Ensemencement des souches d'actinobactéries en stries serrées homogènes sur le milieu ISP2 solide (20 g d'agar/l) stérile et incubation à 30 °C pendant 10 jours. Ce milieu est préconisé pour la production d'antibiotiques par les actinobactéries.
- b) Préparation des suspensions d'*A. baumannii* à partir de cultures jeunes dans l'eau distillée stérile contenue dans des tubes à vis
- c) Inoculation aseptique du milieu MH (15 g d'agar/l) stérile avec les germes cibles à raison de 200µl de la suspension par 100 ml du milieu et homogénéisation avant d'être coulé dans des boîtes de Pétri stériles à raison de 20 ml par boîte.
- d) Coupure aseptique des cylindres d'agar de diamètre de 10 mm, à partir des boîtes ensemencées par les actinobactéries, à l'aide d'un emporte-pièce stérile.
- e) Dépôt des cylindres à la surface du milieu MH inoculé avec les germes cibles et réfrigération à 4 °C pendant 2 h pour permettre la diffusion des antibiotiques dans le milieu et empêcher momentanément la croissance des germes cibles.
- f) Incubation dans l'étuve à 30 °C pendant 18h.
- g) Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour des cylindres sont mesurés à l'aide d'une règle.



**Figure 2.** Illustration des étapes de la méthode des cylindres d'agar

## 6. Détermination de CMI de la colistine et W9

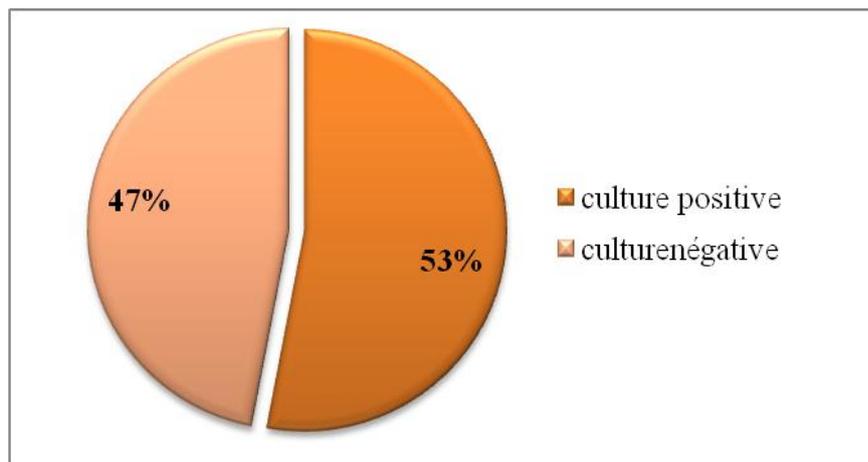
La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la colistine et de la W9 ont été effectuée par la méthode conventionnelle des dilutions en milieu gélosé, coulé en boîtes de Pétri (Oki *et al.*, 1990). Cette méthode consiste à réaliser une série de dilutions pour chaque antibiotique. Pour ce faire, les antibiotiques sont ajoutées à la gélose Mueller-Hinton (juste avant de les couler dans les boîtes de Pétri), de telle sorte que leurs concentrations finales soient de 0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 4 ; 8 ; 16 ; 32 ; 64 ; 128 ; 256 $\mu$ g/ml. Les *A. baumannii* sont ensemencés en spot (deux répétitions) en déposant 2 $\mu$ l de la suspension de chaque souche *A. baumannii*, préalablement préparée et justifié à la concentration de 0,5 MF, à la surface du milieu. La lecture est effectuée après 18h d'incubation à 35°C. Elle consiste à évaluer la croissance d'*A. baumannii* par rapport au témoin sans antibiotiques. Les CMI sont déterminées en considérant les concentrations minimales qui inhibent totalement la croissance d'*A. baumannii* (**Annexe 5**).

## Résultats

### 1. Diagnostic microbiologique

#### 1.1. Résultats de l'isolement

Durant notre travail au laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Beni Messous, du 1<sup>er</sup> février jusqu'au 30 mai 2018, 1654 prélèvements ont été analysés. Après la mise en culture pendant 18 à 48h d'incubation nous avons obtenu 781 prélèvements cultures négatives et 873 prélèvements cultures positives (**Figure 3**).



**Figure 3.** Les taux de cultures positives et cultures négatives

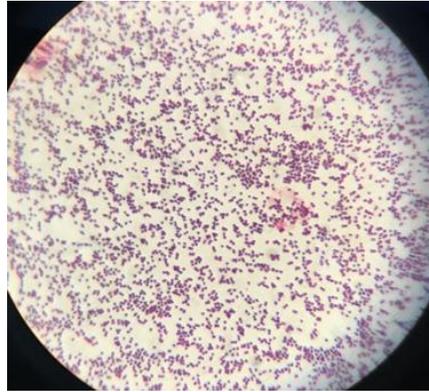
#### 1.2. Résultats de l'étude morphologique

L'examen macroscopique des cultures qui ont montré des colonies lisses, circulaires, convexes avec une couleur blanchâtre (**Figure 4**) (Denis *et al.*, 2011) ont fait l'objet d'une coloration de Gram.



**Figure 4.** Aspect de colonies sur les milieux d'isolement

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram des colonies a révélé les caractéristiques micromorphologiques d'*Acinetobacter* pour certaines colonies, à savoir la présence de petits bacilles ou coccobacilles à coloration mixte (rose et violet en majorité), à extrémités arrondies pouvant être isolés, regroupés à deux ou bien en courtes chainettes (Denis *et al.*, 2011) (**Figure 5**).



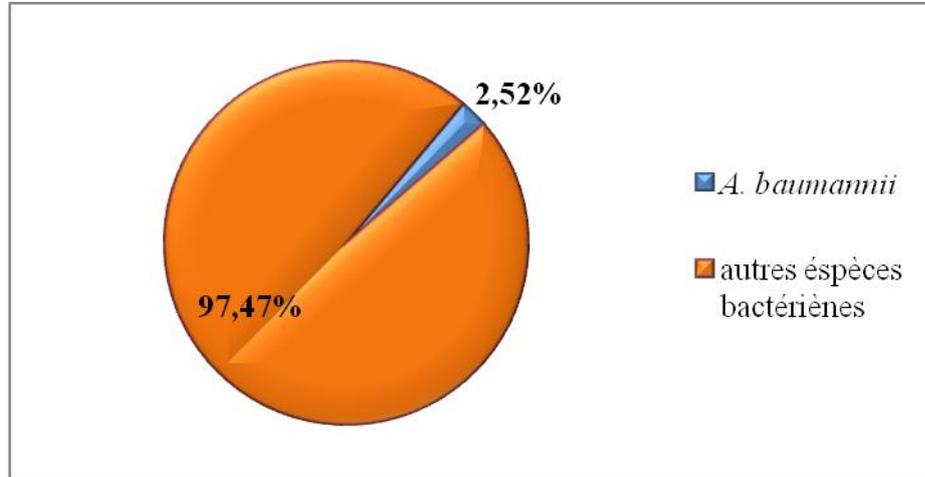
**Figure 5.** Observation microscopique d'*Acinetobacter* après coloration de Gram (grossissement X 100)

### 1.3. Résultats des tests biochimiques

Les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes, identifiées d'une manière présumptive comme *Acinetobacter* (sur la base de la caractérisation morphologique et coloration de Gram), ont révélé une réaction négative à l'oxydase (**oxydase -**) (**Annexe 6**) et positive à la catalase (**catalase +**) (**Annexe 7**) et dégradation des sucres par voie oxydative sur le milieu MEVAG. L'ensemble des souches présentant ces caractéristiques, ont été identifiées par la galerie API 20 NE (**Annexe 8**). Après lecture, codification des résultats et leur interprétation par le logiciel API 20 NE, 22 souches ont été rattachées à *A. baumannii* dont leurs dénominations est comme suit : S460, S457, S01, S54, S341, S473, S1000, S214, S361, S673, S1804, S1816, S439, S608, S568, S839, S136, S292Ur, S483, S581, S344, S292 (Les numéros après le S, exemple S361, correspondent aux numéros des patients).

## 2. Taux d'*A. baumannii* dans les prélèvements

Parmi 873 bactéries isolées, le taux d'isolement d'*A. baumannii* est de 2,52 % (soit 22 souches), tandis que 97,47 % (soit 851 souches) appartiennent à d'autres espèces bactériennes (Figure 6).



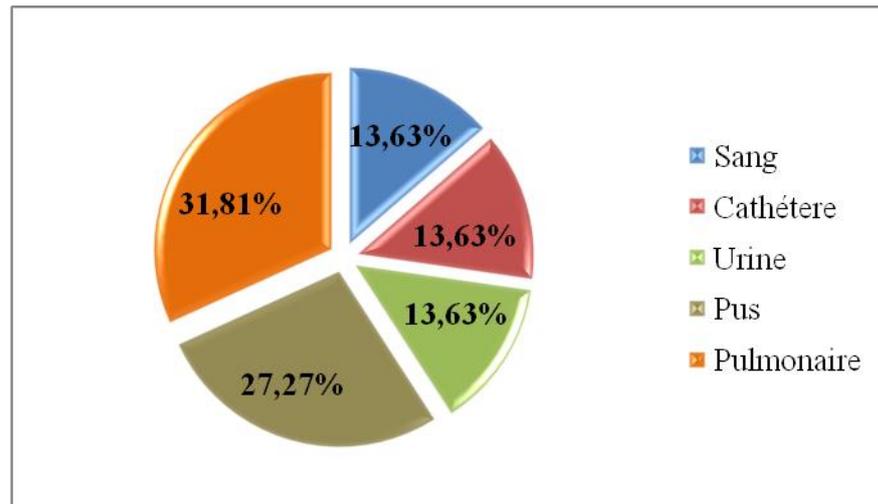
**Figure 6.** Le taux d'isolement d'*A. baumannii* par rapport à d'autres espèces bactériennes

### 2.1. Répartition des souches d'*A. baumannii* selon la nature des prélèvements

Les 22 souches d'*A. baumannii* ont été isolées à partir d'une grande variété de prélèvements cliniques. Nous avons constaté leur présence dans la majorité des prélèvements principalement pulmonaires avec un taux de 31,81 % et du pus avec un taux de 27,27 % suivi du sang, cathéters, et urines avec un taux de 13,63%. Nous notons qu'aucune souche n'a été isolée du LCR (Tableau 9, Figure 7).

**Tableau 9.** Répartition des souches d'*A. baumannii* selon la nature des prélèvements

Nature de prélèvements	Nombre de souches d' <i>A baumannii</i>
Hémoculture	3
Cathéter	3
Pus (profond et superficiel)	6
Pulmonaires (Expectorations, liquide bronchique, aspiration endo-trachéal)	7
Urines	3
Liquide céphalo- rachidien	0



**Figure 7.** Répartition des souches d’*A. baumannii* selon la nature des prélèvements

**2.2. Répartition des souches d’*A. baumannii* selon les services**

Nous avons isolé 6 souches chez les patients non hospitalisés (soit 27,3%) et 16 souches chez les patients hospitalisés (soit 72,7%). Parmi les souches isolées en milieu hospitalier, le service de réanimation médicale occupe la première place avec 50% des souches isolées, suivi par le service de néphrologie avec 13,63%, le service de pédiatrie est quant à lui avec le plus faible pourcentage qui est 9,09 % (**Tableau 10, Figure 8**).

**Tableau 10.** Répartition des souches d’*A. baumannii* par service

Provenance des prélèvements		Le nombre de souches d’ <i>A. baumannii</i>	Taux de souches d’ <i>A. baumannii</i> (%)
Hôpital	Réanimation médicale	11	72,7
	Pédiatrie	2	
	Néphrologie	3	
Externe		6	27,3
<b>Total</b>		<b>22</b>	<b>100</b>

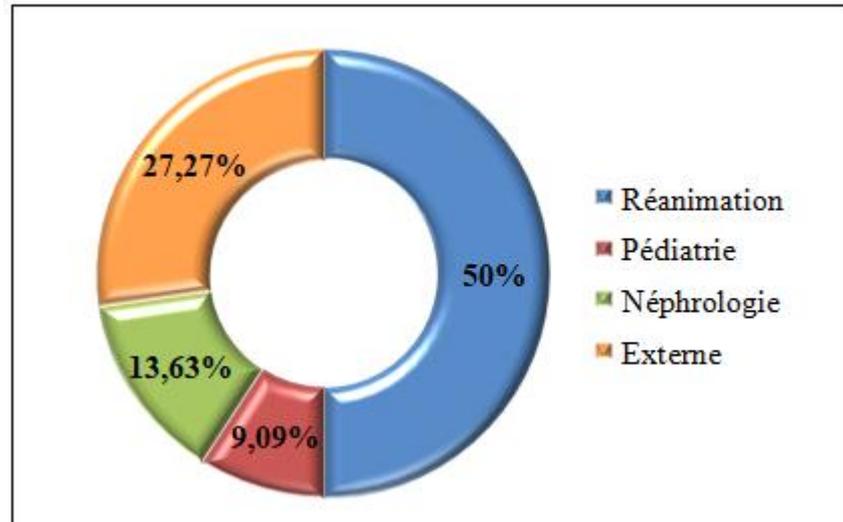


Figure 8. Répartition des souches d'A. baumannii par service

### 3. Profil de résistance d'Acinetobacter baumannii aux antibiotiques

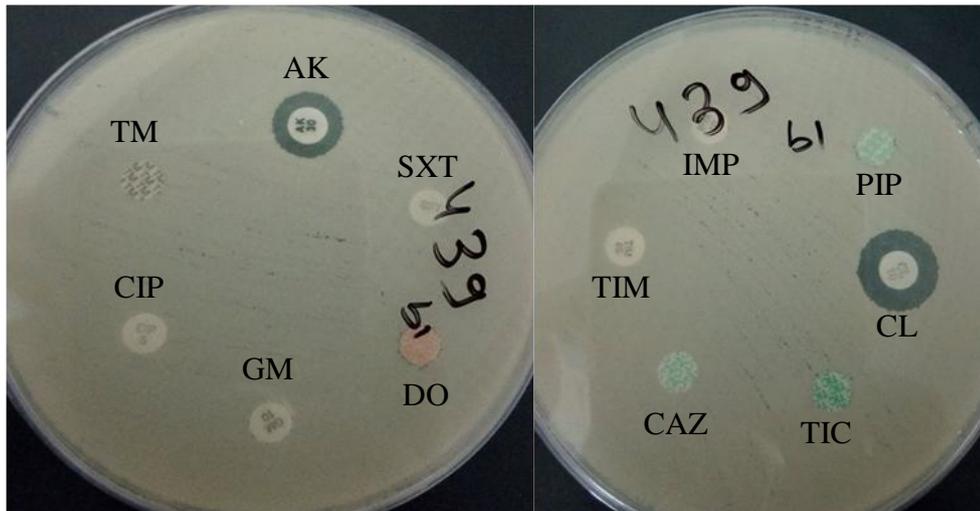
#### 3.1. Résultat de l'antibiogramme

Toutes les souches d'A. baumannii ont été testées vis-à-vis 11 molécules d'antibiotiques appartenant à 5 familles différentes (Figure 9). Les profils de résistance aux antibiotiques montrent que les souches d'A. baumannii présentent différents comportements vis-à-vis les antibiotiques testés (Tableau 11).

Tableau 11. Profil de résistance des souches d'A. baumannii aux antibiotiques testés

Souches d'A. <i>baumannii</i>	β-lactamines					Aminosides			Cyclines	Sulfamides	Quinolones				
	TIC	TCC	PIP	CAZ	IMP	GN	AK	TM	DO	SXT	CIP				
S292U, S1804, S292, S439, S483, S608, S460, S457, S54, S341, S473, S214, S361, S673 et S983	R					R			R	R	R				
S1816	R					R			R	S	R				
S344	R					S					R	S			
S136						R	S	R			S	R			
S568						S					R	S			
S581						S					R	S			
S01, S1000						R					R			R	R

R : Résistante, S : Sensible

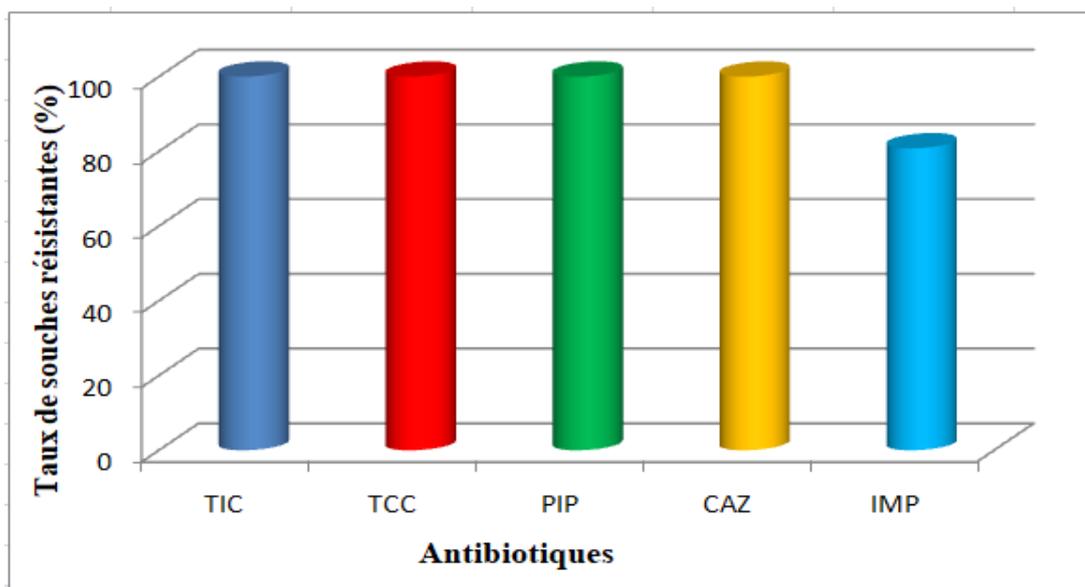


**Figure 9.** Résultat de test de l'antibiogramme

**AK:** Amikacine, **TM:** Tobramycine, **CIP:** Ciprofloxacine, **GN:** Gentamycine, **DO:** Doxycycline, **SXT:** Cotrimoxazole, **IMP:** Imipénème, **TIM:** Ticarcilline+acideclavulanique, **CAZ:** Céftazidime **TIC:** Ticarcilline , **PIP:** Pipéracilline, **CL:** Colistine.

### 3.2. Taux de résistance d'*A. baumannii* aux antibiotiques

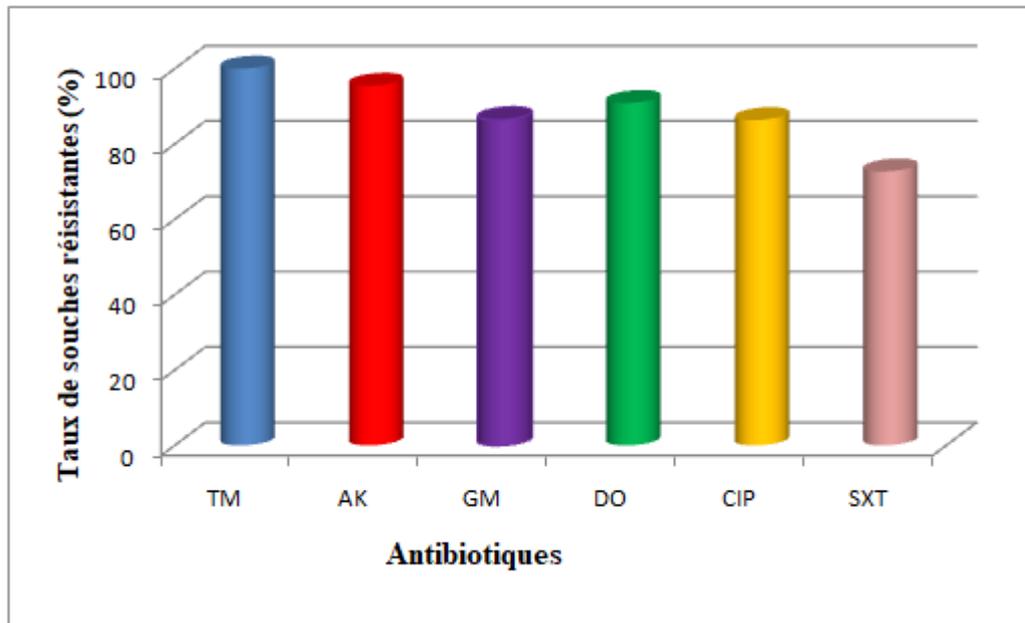
Selon les résultats des antibiogrammes, les souches d'*A. baumannii* étudiées présentent une résistance importante vis-à-vis la famille des bêta-lactamines. La résistance était totale vis-à-vis la pipéracilline, la ticarcilline, la ticarcilline+acide clavulanique et la céftazidime, et de 81,81% contre l'imipénème (**Figure 10**).



**Figure 10.** Taux de résistance d'*A. baumannii* aux bêta-lactamines

**IMP:** Imipénème, **TCC:** Ticarcilline+acideclavulanique, **CAZ:** Céftazidime, **TIC:** Ticarcilline, **PIP:** Pipéracilline

Concernant les autres classes d'antibiotiques, pour les aminosides, le taux de résistance le plus important est noté contre la tobramycine (100%) suivi par la doxycycline 90,90 %. Un taux de la résistance important est observé contre la ciprofloxacine (86,36 %) (**Figure 11**).



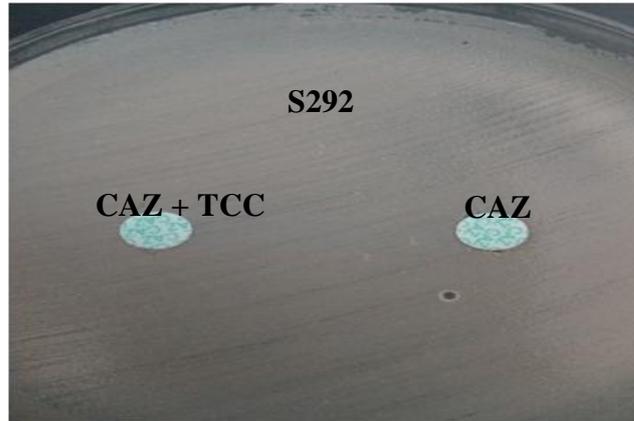
**Figure 11.** Taux de résistance d'*A. baumannii* aux autres classes d'antibiotiques

**AK:** Amikacine, **TM:** Tobramycine, **GM:** Gentamycine (aminosides), **DO :** Doxycycline (cycline), **SXT:** Cotrimoxazole (sulfamide), **CIP:** Ciprofloxacine (quinolone)

#### 4. Résultats des tests complémentaires de l'antibiogramme

Les tests complémentaires de l'antibiogramme ont révélé phénotypiquement trois mécanismes de résistances enzymatiques chez les souches d'*A. baumannii* testés : bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), céphalosporinases, metallo-carbapénémases (**Tableau 12**).

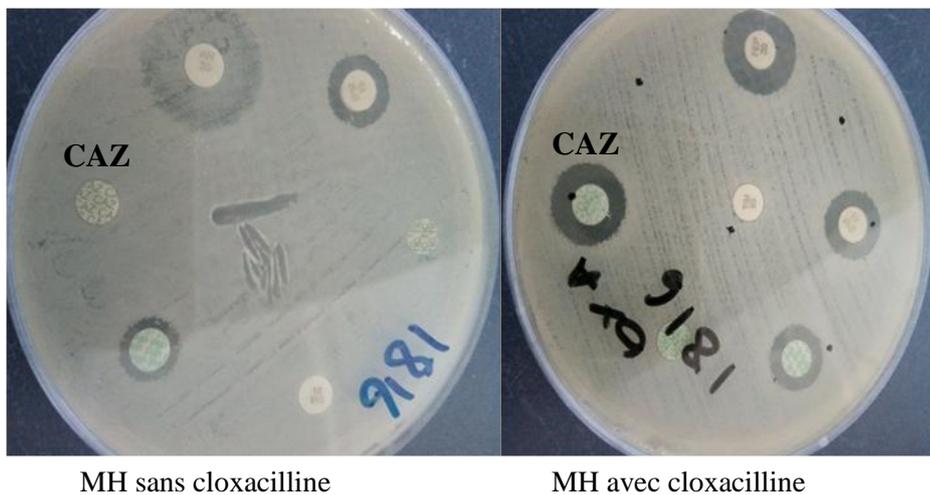
Selon le test de double disque sur le milieu gélosé, toutes les souches d'*A. baumannii* ont été testées sur leur phénotype de résistance, pour cela le résultat négatif chez 19 (soit 86,86 %) souches a été déduit suite à l'absence de diamètre d'inhibition autour du disque de CAZ et TCC+CAZ, les souches étaient non productrices de BLSE. Le résultat positif a été déduit chez les trois souches d'*A. baumannii* suite à la présence d'un grand diamètre d'inhibition autour de disque TCC+CAZ par rapport au diamètre d'inhibition de CAZ, les souches sont notées productrice de BLSE (**Figure 12**).



**Figure 12.** Test du double disque pour confirmation de BLSE chez *A. baumannii* (résultat négatif)

**CAZ :** Céftazidime, **TCC:** Ticarcilline + acide clavulanique

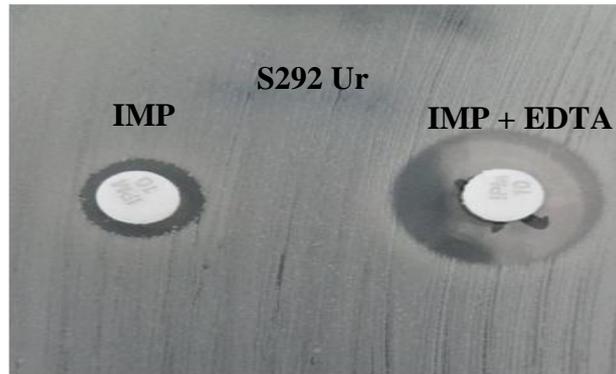
La production de céphalosporinase observée pour les dix souches (soit 45,45%) d'*A. baumannii* a été déduite suite à la récupération de l'activité des céphalosporines de troisième génération (augmentation de diamètre d'inhibition autour de disque de CAZ) en présence d'une concentration de la cloxacilline additionnée au milieu Mueller Hinton (**Figure 13**).



**Figure 13.** Résultat du test à la cloxacilline

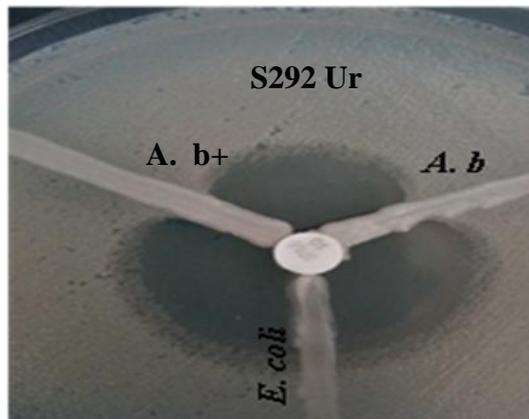
**CAZ :** Céftazidime

Les testes phénotypiques EDTA et HODGE ont permis de mettre en évidence l'enzyme métallo-carbapénèmase produite par 18 souches (soit 81,81%) (**Figure 14, 15**).



**Figure 14.** Résultat du test à EDTA (résultat positif)

IMP : Imipénème, EDTA : éthylènediaminetétraacétique



**Figure 15.** Résultat du test Hodge (résultat positif)

**A. b + :** *A. baumannii* (trèfle+), **E. coli (Témoin -):** *Escherichia coli* ATCC 27853, **A. b** (souche d'*A. baumannii* à tester)

**Tableau 12.** Phénotypes de résistance d'*A. baumannii*

Souches	BLSE	Métallo-carbapénèmase	Céphalosporinase
S460	-	+	-
S457	-	+	-
S01	-	+	-
S54	+	+	+
S341	-	+	-
S473	-	+	-
S1000	-	+	-
S214	-	+	-
S673	-	+	-
S361	-	+	+
S292 Ur	-	+	-
S1804	-	-	+
S1816	+	-	+
S439	-	+	-
S344	-	+	-
S292	-	+	-
S136	-	+	+
S483	-	+	+
S608	-	-	+
S568	-	-	+
S581	-	+	+
S893	+	+	+

### 5. Évaluation du potentiel antagoniste des 62 souches d'actinobactéries

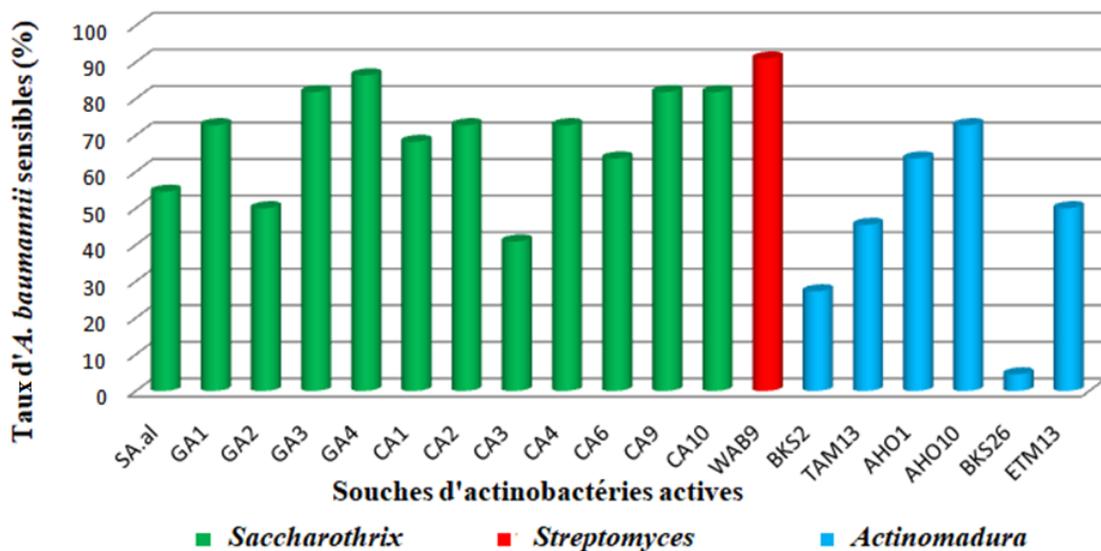
Les 62 souches d'actinobactéries cultivées sur le milieu ISP2 ont été testées contre 22 souches d'*A. baumannii* par la méthode des cylindres d'agar pour évaluer leur potentiel de production des antibactériens. Parmi les 62 souches d'actinobactéries, 19 souches (soit 30,65 %) se sont montrées actives contre au moins une souche d'*A. baumannii*. En revanche, 43 souches (soit 69,35 %) n'ont présenté aucune activité. L'activité antimicrobienne est obtenue chez toutes les souches (12) de *Saccharothrix* ou apparentés, 6 souches d'*Actinomadura* et une souche de *Streptomyces*, mais elle est absente chez 18 souches de *Streptomyces*, 22 souches d'*Actinomadura*, une souche de chacun des genres de *Saccharopolyspora*, *Saccharomonospora* et *Micromonospora*. Les résultats des souches actives sont consignés dans le **Tableau 13**.

**Tableau 13.** Activité antibactérienne des souches d'actinobactéries contre les souches d'*A. baumannii*

Actinobactéries		Zone d'inhibition (mm)																					
		Souches d' <i>A. baumannii</i>																					
Souches	Genres	S1000	S54	S344	S457	S483	S439	S214	S581	S292	S568	S1816	S1804	S608	S01	S473	S460	S136	S341	S292 Ur	S361	S673	S893
SA.al	<i>Saccharothrix algeriensis</i>	15	25	20	25	23	-	-	20	12	-	18	-	20	-	20	-	-	-	20	-	-	21
GA1	<i>Saccharothrix</i>	18	24	20	22	23	-	24	-	28	20	-	-	26	-	24	26	24	25	25	-	24	25
GA2	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	23	25	24	26	25	-	25	-	22	18	-	-	-	-	-	-	20	-	18	-	-	21
GA3	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	20	26	22	25	25	-	26	-	20	20	-	13	14	-	15	28	18	13	15	15	22	20
GA4	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	22	23	22	24	22	-	24	-	23	24	-	14	15	11	13	23	20	13	13	14	14	20
CA1	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	-	24	-	14	20	-	20	20	-	-	27	25	26	-	30	23	30	23	22	-	26	25
CA2	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	-	22	20	20	22	-	22	21	-	-	30	20	27	-	30	25	30	25	23	-	25	28
CA3	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	-	22	21	23	22	-	-	-	-	-	20	-	23	-	-	-	-	-	25	-	23	20
CA4	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	-	23	23	20	20	-	-	-	20	-	24	-	15	11	20	13	14	14	23	13	25	15
CA6	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	-	-	-	-	-	-	-	-	20	11	25	15	16	14	20	15	14	20	15	16	15	16
CA9	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	25	25	25	22	25	-	28	22	28	23	-	-	14	-	11	25	13	24	11	12	24	14
CA10	<i>Saccharothrix</i> ou apparentés	23	25	25	22	25	-	25	25	30	25	-	20	25	-	25	25	24	27	26	-	25	25
WAB9	<i>Streptomyces</i>	13	15	15	14	14	12	12	14	12	15	15	13	13	12	15	12	-	15	-	25	13	14
BKS2	<i>Actinomadura</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	15	16	15	18	15	-	-	-	-	-	-	-	18	-
TAM13	<i>Actinomadura</i>	17	19	17	19	18	18	19	19	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AHO1	<i>Actinomadura</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	20	21	22	16	20	22	22	22	20	18	16	20	16	21
AHO10	<i>Actinomadura</i>	-	-	-	-	-	-	15	18	15	18	11	17	16	15	18	21	20	20	15	20	16	18
BAS26	<i>Actinomadura</i>	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ETM13	<i>Actinomadura</i>	15	22	20	15	15	15	-	15	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	20	18	-	16

L'activité antibactérienne contre *A. baumannii*, obtenue chez les 19 souches actives est généralement forte pour les 12 souches de *Saccharothrix* et l'unique souche de *Streptomyces* (la souche WAB9) et moyenne pour les 6 souches d'*Actinomadura*. Les diamètres d'inhibitions obtenus par ces souches actives, variées entre 10 et 30 mm. Nous remarquons une variation des diamètres d'inhibitions entre les souches de même genre ; ceux de *Saccharothrix* variaient de 11 à 30 mm, tandis que ceux des *Actinomadura* variaient de 10 à 22 mm. Les *Saccharothrix* étaient hautement actives avec un diamètre d'inhibition maximal de 30 mm observé contre certaines souches d'*A. baumannii* (S1816, S1804, S473, S136), suivies de *Streptomyces* avec une zone d'inhibition qui atteint 25 mm, finalement les *Actinomadura* avec une zone d'inhibition maximale de 22 mm (**Annexe 9**).

Le spectre d'action des molécules antibactériennes sécrétées par les souches d'actinobactéries actives est assez large pour la majorité des souches avec un spectre maximal (20 souches d'*A. baumannii* sensibles) obtenu par la souche WAB9 de *Streptomyces* (**Figure 16**).



**Figure 16.** Spectre d'action des antibactériens produits par les souches d'actinobactéries contre les souches d'*A. baumannii*

**6. Détermination des CMI de la colistine et l'antibiotique W9**

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) a été réalisée pour la colistine et l'antibiotique W9 (produit par la souche WAB9) contre 22 souches d'*A. baumannii* et une souche de référence *Escherichia coli* ATCC 27853. Les résultats des CMI sont consignés dans le **Tableau 14**.

Les résultats sont validés par une CMI de 1 µg/ml de la souche d'*E. coli* ATCC 27853.

**Tableau 14.** Résultats des CMI de la colistine et de l'antibiotique W9 contre *A. baumannii*

Souches bactériennes	CMI (µg /ml) des antibiotiques	
	Colistine	W9
S460 ; S473 ; S214 ; S361 ; S568 et S439	0,5	64
S457 ; S01 ; S54 ; S341 ; S673 ; S1804 ; S1816 ; S608 ; S839 ; S136 ; S292r ; S483 ; S581 ; S344 et S292	0,25	
S1000	1	

La sensibilité d'*A. baumannii* à la colistine est appréciée uniquement par la détermination de la CMI. La colistine a une action contre toutes les souches d'*A. baumannii* testées. La CMI était de 0,25 µg /ml pour 15 souches et de 0,5 µg /ml pour 6 souches, et de 1 µg/ml contre une seule souche. Ces CMI sont toutes inférieures à 2 µg/ml, donc nos souches sont toutes sensibles à la colistine (CLSI 2014) (**Annexe 10**). Après l'évaluation d'activité antagoniste, une forte activité antibactérienne a été observée par la souche WAB9 de *Streptomyces* sp., pour laquelle l'antibiotique W9 a été purifié par HPLC dans le laboratoire LBSM. La CMI pour l'antibiotique W9 contre les 22 souches d'*A. baumannii* était de 64 µg /ml (**Annexe 11**).

## Discussion

Au cours de notre étude, nous avons analysé 1654 prélèvements, dont 53% était positif. Parmi les 873 prélèvements positifs, nous avons isolé 22 souches d'*A. baumannii*, ce qui correspond à une fréquence de 2,52%. Des taux relativement similaires ont été trouvés par Khaled (2016) (7%), Uwingabiye *et al.* (2016) (6,94%) et Elkettani *et al.* (2017) (9,2%). Cependant, une prévalence largement supérieure à nos résultats a été signalée par Mocket *et al.* (2013) (45,7%). Les souches d'*A. baumannii* ont été isolées des différents types de prélèvement analysés en particulier ceux provenant des patients hospitalisés avec une fréquence de 72,7%. Les 27,3% restant provient des malades externes mais ayant récemment séjournés à l'hôpital ce qui confirme le caractère nosocomial des infections à *A. baumannii* (Bennett *et al.*, 2016 ; Almasaudi, 2018).

Les prélèvements pulmonaires étaient la source principale de cette bactérie (37,8%). Nos résultats concordent avec l'étude réalisée par Benhaj Khalifa (2009) qui a trouvé que les voies aériennes sont le principal site d'isolement de cette espèce. Cela pourrait être expliqués par le risque de colonisation et d'infection important dans ce service vu le terrain particulier des patients et à la fréquence des manœuvres invasives (Rio *et al.*, 2002 ; Van Eldere, 2003). Une autre étude réalisée à Casablanca entre 2001-2003, a montré que 50% des souches d'*A. baumannii* provenaient des services de réanimation (Elouennass *et al.*, 2003).

Le pus est la seconde source d'*A. baumannii* avec un taux de 27,3%. Ce type de prélèvement provient des patients ayant subi une intervention chirurgicale et sont hospitalisés. Un taux similaire (32,5%) a été trouvé par Falagas *et al.* (2015). Cependant l'étude réalisée par Sileeme *et al.* (2017) a révélé un taux de 3,8% qui est inférieur à celui trouvé dans notre étude.

Les autres prélèvements (sang, cathéters et urines) viennent en troisième position avec un taux similaire qui est de 13,63%. L'étude d'Uwingabiye *et al.* (2016) a révélé la présence d'*A. baumannii* dans 14,51% des prélèvements sanguins mais d'après Cisneros et Rodriguez Bano (2002), *A. baumannii* est impliquée uniquement dans 1,3% de septicémies (taux enregistrée pour une période d'étude de 7 ans : de 1995 à 2002). La présence d'*A. baumannii* dans les urines, a été rapportée par Sileem *et al.* (2017) avec une fréquence de 14,1 % qui est similaire à celle retrouvée dans notre travail. Cependant un taux de 1,6% a été signalé par Peleg *et al.*

(2008). Le cathéter peut être aussi colonisé par *A. baumannii*, un taux de 3,85% a été rapporté par Uwingabiye *et al.* (2016).

Nous signalons qu'aucune souche d'*A. baumannii* n'a été isolé du LCR ce qui ne concorde pas avec les résultats obtenus par Basri *et al.* (2017) qui a trouvé que cette espèce représente 10% des bacilles à Gram négatif isolées du LCR et responsable de 4% des méningites nosocomiales. L'absence d'*A. baumannii* dans le LCR est probablement dû au nombre très faible de prélèvements analysés (5 prélèvements uniquement).

Le profil de résistances aux antibiotiques des souches d'*A. baumannii* isolées a été déterminé par la technique de l'antibiogramme vis-à-vis 11 antibiotiques. Les résultats ont révélé une résistance totale de 15 souches à tous les antibiotiques testés et un taux de résistance assez important pour le reste des souches. Ces résultats nous permettent de considérer nos souches de Bactéries Multi-Résistantes (BMR) (Siegel *et al.*, 2006). *A. baumannii* est douée d'une grande capacité adaptative lui permettant d'acquérir facilement et rapidement de nouvelles résistances à de nombreuses classes d'antibiotiques notamment les bêta-lactamines, les aminosides et les quinolones (Decré, 2012).

Nos résultats montrent que toutes les souches d'*A. baumannii* sont résistantes à tous les bêta-lactamines à l'exception de 19,09 % de souches qui sont sensibles à l'imipénème uniquement. Des taux de résistance beaucoup plus faibles ont été trouvés en Tunisie en 2009, la résistance à la ticarcilline, la pipéracilline et la céftazidime était de 51,7%, 58,4%, et 52,2% respectivement (Benhaj Khalifa, 2009). Grati *et al.* (2005) rapportent un taux de résistance à l'imipénème de 87,5 % qui est relativement proche de notre résultat (81,81%).

Notre travail montre que la résistance des souches d'*A. baumannii* aux aminosides atteint 100% pour la tobramycine et dépasse 80% pour la gentamycine. Cette résistance est largement élevée par rapport à celle retrouvée en Europe, elle est de 47,1% pour la gentamycine (Unal et Garcia-Rodriguez, 2005), et de 41% pour la tobramycine (Turner et Greenhalgh, 2003). Cependant, un taux de résistance à la gentamycine (69,3%) plus élevé est signalé aux états unis en 2018 par Bulens *et al.* Concernant la résistance à la ciprofloxacine, elle est de 86,36% dans notre étude. Ce taux élevé est proche de celui trouvé récemment au Maroc (91%) (Khaled, 2016).

Dans notre étude 19 souches d'*A. baumannii* (soit 86,86 %) ne produisent pas des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Selon le réseau national de surveillance des bactéries

résistantes en Algérie, en 2009, la production de BLSE était de 22,02% dans 16 laboratoires, et que le nombre des souches d'*A. baumannii* reste faible (Benslimani, 2009).

Nos résultats montrent que 10 souches d'*A. baumannii* (soit 45%) sont productrices de céphalosporinase. L'étude réalisée par Yongrui et Xiangqun, (2015) a révélé un taux de 72 % qui est beaucoup plus supérieur à celui trouvé dans notre étude. *A. baumannii* possèdent naturellement une céphalosporinase chromosomique, habituellement, ces enzymes présentent une faible hydrolyse des carbapénèmes et peuvent ne pas toujours montrer le profil de résistance, mais quand ils sont associés à des éléments d'insertion, ils peuvent avoir une augmentation de leur expression et de montrer une résistance aux carbapénèmes (Gueudet *et al.*, 2010).

Notre travail révèle que 18 souches d'*A. baumannii* (81,81%) sont productrices de métallo-béta-lactames. C'est un taux similaire à celui trouvé par Kaur *et al.* (2014) (80,3 %). Toutefois le taux des souches d'*A. baumannii* productrices de métallo-béta-lactamases rapporté par Peymani *et al.* (2011), Gildas *et al.* (2013), Mathlouthi *et al.* (2016) est de 49%, 40% et 22,2% respectivement. La production des ces enzymes varie selon les pays, elle a été respectivement de 33,3 ; 32 et 14,2% en Turquie, en Amérique latine et en Corée, ces résultats montrent que la fréquence des souches d'*A. baumannii* productrice de métallo-béta-lactames augmente de façon inquiétante partout dans le monde et leur émergence représente un sérieux risque épidémiologique pour au moins deux raisons, d'une part ces MBL confèrent non seulement la résistance à l'imipénème mais à toutes les bêta-lactamines et aux autres classes d'antibiotiques comme les aminosides, et d'autre part les gènes codant pour ces enzymes sont portés par des intégrons qui peuvent se transmettre horizontalement à d'autres souches (Ait el kadi *et al.*, 2006).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un phénomène qui prend de plus en plus de l'ampleur et engendre des impasses thérapeutiques. Face à ce problème, la recherche de nouveaux antibiotiques s'impose et les actinobactéries constituent une source intéressante de ces molécules.

Le criblage de l'activité antibactérienne de 62 souches d'actinobactéries a montré que 19 souches sont actives contre au moins une souche d'*A. baumannii*. Nombreux antibiotiques sont sécrétés par les actinobactéries à savoir l'érythromycine, la kanamycine, le chlorophénicol et la simaomicine sécrétés par *Saccharopolyspora erythrae*, *Streptomyces*

*kanamycettcus*, *Streptomyces venezuelae*, *Actinomadura madurae* respectivement (Solanki *et al.*, 2008).

Nos résultats montrent une forte activité antibactérienne de douze souches de *Saccharothrix* contre *A. baumannii*, toutefois, la plupart des antibiotiques sécrétés par les souches de *Saccharothrix* ciblent surtout les bactéries à Gram positif et parfois les champignons. En revanche, ils sont rarement dirigés contre les bactéries à Gram négatif (Takeuchi *et al.*, 1992; Kinoshita *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2000; Lamari *et al.*, 2002; Zitouni, 2005).

Une seule souche de *Streptomyces* a montrée également une forte activité antibactérienne contre *A. baumannii*. Nos résultats sont similaires à ceux de Yakour *et al.* (2015), qui a montré que la souche WAB9 est particulièrement active et possède un large spectre qui s'étend sur plusieurs champignons filamenteux, aussi bien ceux qui sont phytopathogènes, ceux qui sont toxigènes pour l'homme et dont certains sont multi-résistants à plusieurs antibiotiques. De plus, une forte activité de la souche WAB9 est également notée contre un nombre important de bactéries pathogènes, aussi bien à Gram positif qu'à Gram négatif, et dont certaines sont multi-résistantes à plusieurs antibiotiques.

Nos résultats montrent une activité antibactérienne moyenne de six souches d'*Actinomadura* contre *A. baumannii*. Ce genre est connu pour la production de plusieurs molécules antibactérienne à savoir la maduramycine sécrétée par *A. rubra*, l'actinotiocine produite par *A. puslla* et la carminomycine élaborée par *A. caminata* (Sanlanki *et al.*, 2008). Badji *et al.* (2006) ont montré que des souches du genre *Actinomadura* isolées de sols algériens possèdent une activité antibactérienne.

Nos résultats montrent que la CMI de l'antibiotique W9 contre les 22 souches d'*A. baumannii* est de 64 µg/ml. Selon Yakour *et al.* (2015), l'antibiotique W9 a présenté des valeurs de CMI appréciables pour une large gamme de pathogènes multi-résistants testés: *Pseudomonas aeruginosa* IPA1 (10µg/ml), *Staphylococcus aureus* S1 (50µg/ml), *Escherichia coli* E5 (20µg/ml). Nos CMI sont importante que celles obtenues par Yakour *et al.* (2015) mais restent dans la gamme des CMI d'antibiotiques utilisés en médecine.

En raison de l'augmentation des bactéries multi-résistantes, il y a une augmentation de l'utilisation de la colistine comme une option de traitement de dernier recours pour les infections causées par *A. baumannii*, la sensibilité de ces bactéries à la colistine est appréciée

uniquement par la détermination de la CMI (Balaji *et al.*, 2011). Dans notre étude, la colistine a montré une forte activité contre 100 % d'*A. baumannii* avec une valeur comprise entre 0,25-1 µg/ml. Nos résultats sont similaires à ceux de Kandeel, (2016) qui a trouvé la CMI de la colistine inférieure à 2 µg/ml. De plus notre résultat est concorde avec d'autres rapports qui indiquant que la colistine avait une excellente activité bactéricide contre la plupart des bacilles Gram négatif (Duenas-Diez *et al.*, 2014). Cependant, Qureshi *et al.* (2015) a montré que l'utilisation croissante de la colistine a conduit l'émergence de souches *A. baumannii* résistantes à cet antibiotique.

## Conclusion et perspectives

La résistance aux antibiotiques est l'un des problèmes les plus importants auquel fait face la santé humaine. Cette résistance est présente en particulier chez les bactéries rencontrées dans le milieu hospitalier, dont l'espèce *Acinetobacter baumannii* qui pose ces dernières années un sérieux problème thérapeutique.

Notre travail nous a permis d'isoler vingt deux souches d'*A. baumannii* à partir de divers prélèvements pathologiques au niveau de CHU de Beni Mesous-Alger. Cette espèce est isolée avec une fréquence relativement faible. La majorité des souches proviennent des prélèvements pulmonaires des patients hospitalisés dans le service de réanimation.

L'évaluation de l'antibiorésistance des souches isolée aux antibiotiques recommandés pour le traitement des infections à *A. baumannii* a révélé l'inefficacité de la majorité des molécules testées. Nous notons une absence totale de l'activité antibactérienne des cinq  $\beta$ -lactamines testés contre toutes les souches isolées. Cela est dû à la production de différentes enzymes qui dégrade ces molécules à savoir les métallo- $\beta$ -carbapénèmases et les céphalosporinases. Cependant, l'ensemble des souches d'*A. baumannii* sont sensible à la colistine qui est active avec de très faibles CMI.

Les résultats de l'étude de pouvoir antagoniste d'une collection d'actinobactéries ont montré la capacité de certaines souches appartenant aux genres *Saccharothrix*, *Actinomadura* et *Streptomyces* de sécréter des molécules bioactives contre *A. baumannii*. Cette activité est plus étendue pour les antibactériens produits par la souche WAB9 de *Streptomyces*. Les CMI de l'antibiotique W9 sécrété par cette souche sont moins importantes que celle obtenue par la colistine mais reste dans l'intervalle des CMI des antibiotiques utilisés en médecine.

Face à cette antibiorésistance alarmant d'*A. baumannii* et à la limite de molécules actives contre cette espèce, les actinobactéries peuvent être une source de molécules qui pourraient répondre à ce besoin accru.

En perspectives, les résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et méritent d'être complétés par :

- Élargissement de la période d'étude afin d'avoir des résultats représentatifs et significatifs, où sera pris en compte un nombre plus considérable d'*A. baumannii*.

- Extraction et purification des molécules bioactives responsable de l'activité antibactérienne chez les *Saccharothrix* ,
- Ce qui concerne l'antibiotique W9, le travail le plus urgent à réaliser est d'évaluer la toxicité vis-à-vis des cellules animales, afin de mieux évaluer son intérêt dans le domaine médical et vétérinaire,

## Références bibliographiques

### A

- Adams, M. D., Nickel, G. C., Bajaksouzian, S.** (2009). Resistance to colistine in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two component system. *Antimicrob Agents Chemother.*, 53: 3628-3634.
- Adegboye, M. F., Babalola, O.O.** (2013). Actinomycetes: a yet inexhaustive source of bioactive secondary metabolites. *Microbial pathogens and strategies for combating them: Science, technology and education.*, 49: 786-795.
- Ait el Kadi, M., Aghrouch, M., Seffar, M., El harti, J., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Souly, K., Zouhdi, M.** (2006). Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème par production de métallob- $\beta$ -lactamases. *Médecine et maladies infectieuses.*, 36 : 386–389.
- Almasaudi, S.** (2018). *Acinetobacter* spp.as nosocomial pathogens : Epidemiology and resistance features. *Saudi Journal of Biological Sciences.*, 25: 586-596.
- Annie, M., Vessières, J., Scavizzi, M. R.** (1996). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Maladies Infectieuses.*, 8 : 6-10.
- Avril, J. L., Daberrat. H., Denis, F., Monteil, H.** (2000). 3em eds. Ellipses Paris.602p.

### B

- Badji, B., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Saboua, N.** (2006). Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from algérien Saharan soil. *Can. J. Microbiol.*, 52: 373-382.
- Balaji, V., Jeremiah, S., Baliga, P. R.** (2011). Polymyxins: Antimicrobial susceptibility concerns and therapeutic options. *Indian Journal Medical Microbiol.*, 29: 230-42.
- Baranzelli, A., Wallyn, F., Nseira, S.** (2013). Infections bronchopulmonaires à *Stenotrophomonas maltophilia* et à *Acinetobacter baumannii*. *Revue de Pneumologie clinique.*, 69: 250-259.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Nathalie, G-V., Jacquard, C., Klenk, H. P., Christophe C., Ouhdouch, Y., Gilles, P.** (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria, *Microbiology and Molecular Biology Reviews.*, 80: 1-44.
- Basri, R., Zueter, A. R., Mahamed, Z., Alam, M. K., Norsa Adah, B., Hasan, S. A., Hasan, H., Ahmad, F.** (2017). Burden of bacterial meningitis: A retrospective review on Laboratory parameters and Factores associated with death in meningitis, Kelantan Malaysia. *J. Med. Sci.*, 77: 59-68.

- Benhaji Khelifa, A.** (2009). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Médecine et maladies infectieuses.*, 40 : 126-128.
- Bennett, J., Dolin, R., Blaser, M. J.** (2016). *Mandell, Douglas and Bennett's Infectious Diseases Essentials.* Eds. ISBN.560p.
- Benslimani, A.** (2009). MRSA, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter* sp. et *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème, à la céftazidime et à la ciprofloxacine. In : *Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.* 11<sup>ème</sup> rapport d'évaluation. 198p.
- Bergogne-Bérézin, E., Towner, K. J.** (1996). *Acinetobacter* sp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clinical Microbiol Review.*, 9: 148–165.
- Bergogne-Bérézin, E., Joly-Guillou, M. L., Vieu, J. F.** (1987). Epidemiology of nosocomial infections due to *Acinetobacter calcoaceticus*. *Journal of Hospital Infection.*, 10: 105-113.
- Bou, G. et Martinez-Beltran, J. C.** (2000). Nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 44: 428-432.
- Bulens, N. S., Yi, H. S., Walters, S. M., Jacob, T. J., Bower, C., Reno, J., Wilson, L., Vaeth, E., Bamberg, W., Janelle, J. S., Lynfield, R., Vagnone, S. P., Shaw, K., Kainer, M., Muleta, D., Mounsey, J., Dumyati, G., Concannon, C., Beldavs, Z., Cassidy, M.P., Phipps, C.E., Kenslow, N., Hancock, B. E., Kallen, J.A.** (2018). Carbapenem-Nonsusceptible *Acinetobacter baumannii*, 8 US Metropolitan Areas, 2012–2015 *Emerging Infectious Diseases.*, 24: 727-734.

## C

- Carbonne, A., Naas, T., Blanckaert, K., Couzigou, C., Cattoen, C., Chagnon J. L., Nordmann, P., Astagneau, P.** (2005). Investigation of nosocomial outbreak of extended-spectrum beta lactamase VEB-1 producing. *J Hosp Infect.*, 60: 14-8.
- Cattoir, V.** (2008). Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation.* Mapar. 208p.
- Cattoir, V.** (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie.*, 52: 607-616.
- Chaudhary, H. S., Soni, B., Shrivastava, A. R., Shrivastava, S.** (2013). Diversity and Versatility of Actinomycetes and its Role in Antibiotic Production. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, 3: 83-94.
- Cisneros, M. J. et Rodriguez-bano, J.** (2002). Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, clinical features and treatments. *Clinical Microbiology and Infection.*, 8: 687-693.

**Clavilier, L., Hervieu, F., Letodé, O.** (2001). Gènes de résistance aux antibiotiques et plantes transgéniques. Edition Inra.35p.

**Courvalin, P. Leclercq, R.** (2012). AntibioGramme, 3<sup>ème</sup>-Eds ESKA.Paris. France.800p.

## D

**Demain, A.L.** (2009). Antibiotics: Natural products essential to human health. Medicinal Research Reviews., 29: 821-842.

**Damier-Piolle, L., Magnet, S., Brémont, S.** (2008). AdeIJK, a resistance- nodulation-cell division pump exffluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother., 52 : 557-562.

**Decré, D.** (2012). *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. Revue francophone des laboratoires., 441: 43-52.

**Denis, F., Poly, M.C., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R.** (2011).Bactériologie medical. Techniques usuelles Eds. Elsevier Masson. Paris.75p.

**Duenas-Diez, A. I., Bratos Perez, M. A., Eiros Bouza, J. M., Almaraz Gomez, A., Gutierrez Rodriguez, P., Miguel Gomez, M. A.** (2004). Susceptibility of the *Acinetobacter calcoaceticus, Acinetobacter baumannii* complex to imipenem, meropenem, sulbactam and colistin. Int. J. Antimicrob. Agents., 23: 487- 493.

## E

**Ebimieowei, E. et Ibemologi, A.** (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research., 4: 90-101.

**El kettani, A., Maaloum, F., Diawara, I., Katfy, K., Harrar, N., Zerouali, K., Belabbes, H., Elmadaghri, N.** (2017). Prevalence of *Acinetobacter baumannii* in intensive care units of Ibn Rochd University Hospital, Casablanca. Iranian Journal of Microbiology., 9: 318-328.

**Elouennass, M., Bajou, T., Lemnouer, A. H., Foissaud, V., Hervé, V., Baaj, A. J.** (2003). *Acinetobacter baumannii*: Etude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. Médecine et Maladies Infectieuses., 33: 361-364.

**Euzéby, J. P.** (2008). List of prokaryotic names with standing in nomenclature <http://www.bacterio.cict.fr/classificationac.html#Acinetobacter>.

## F

- Falagas, E. M., Vardakas, Z. K., Kapaskelis, A., Triarides, A. N., Roussos, N.** (2015). Tetracycline for Multidrug-résistant *Acinetobacter Baumannii* infections. International Journal of Antimicrobial Agents., 14: 252-258.
- Freney, J., Renaud, F., Hansen, W., Bollet, C.** (2007). Précis Bactériologique Clinique, Paris. Edition eska.1692p.

## G

- Gaynes, R., et Edwards, J.** (2005). Overviews of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis., 41: 848-854.
- Genilloud O., Gonzalez I., Salazar O., Martin J., Tormo J. R. and Vicente F.** (2011). Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 38, 375-389.
- George, M., Anjumol, A., George, G., Mohamed Hatha, A. A.** (2012). Distribution and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. Afr. J. Microbiol. Res., 6.
- Gildas, A., Zohoun, C., Moked, D., El Hamzaoui, S.** (2013). Résistance à l'imipénème par production de métallo-lactamases par *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* à l'Hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Ann Biol Clin., 71: 27-30.
- Grati, L., Louzi, M., Mansalli, L., Ben Nasr, K., Zili, N., Ben Salem, F., Gahbiche, M.** (2005). Les pneumopathies nosocomiales en réanimation chirurgicale. Une année de surveillance portant sur 305 patients., 8 : 26p.
- Guedet, T., Richter, S., Szulc, M. et Jehl, F.** (2010). Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques: deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. Médecine et maladies infectieuses., 40 : 177-179.
- Gupta, R. S.** (2011). Origin of (Gram-negative) bacteria: antibiotic selection pressure rather than endosymbiosis likely led to the evolution of bacterial cells with two membranes., 100: 171-182.
- Gonzalez-Villoria, A. M., Valverde-Garduno, V.** (2016). Antibiotic-Resistant *Acinetobacter baumannii* Increasing Success Remains a Challenge as a Nosocomial Pathogen. Journal of Pathogens.,45:1-10.

## H

- Hamuel, J. D., Human, S. I., Ndakidemi, P., A.** (2011). The Ecology, Biology and Pathogenesis of *Acinetobacter* spp. An Overview. *Microbes Environ.*, 26 : 101–112.
- Héritier, C., Poirel, L., Fournier, P. E., Claverie, J. M., Didier, R., Nordmann, P.** (2009). Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49: 4174–4179.
- Heritier, C., Poirel, L., Fournier, P. E.** (2005). Characterization of a naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 49: 4174-4179.
- Heritier, C., Poirel, L., Nordmann, P.** (2006). Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii* . *Clinical Microbiology and Infection.*, 12: 123-130.
- Humphreys, H. et Towner, K. J.** (1997). Impact of *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit in Great Britain and Ireland. *Journal of Hospital Infection.*, 37: 281-286.

## J

- Jiang, Y., Li, Q., Chen, X., Jiang, C.** (2016). Isolation and cultivation methods of *Actinobacteria.*, 10: 41-57.
- Jin, J. S., Kwon, S. O., Moon, D. C., Gurung, M., Lee, J. H., Kim, S. I.** (2011). *Acinetobacter baumannii* secretes cytotoxic outer membrane protein A via outer membrane vesicles. *PLoS ONE.*, 6 : 170-172.
- Joffin, J. N. et Leyral, G.** (2014). *Microbiologie Technique (Dictionnaire des technique)*. Eds. Scérén.150p.
- Joly-Guillou, M. L. et Decré, D.** (2013). *Acinetobacter baumannii* : AntibioGramme. EMC-Biologie medical., 8 : 1-8.

## K

- Kandeel, A.** (2016). Detection of Colistine Susceptibility in Multi- drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* by four Different Methods. *Egyptian Journal of Medical Microbiology.*, 25: 17-23.
- Kaur, A., Gupta, V., Chhina, D.** (2014). Prevalence of metallo-beta-lactamase producing (MBL) *Acinetobacter* species in a tertiary care hospital., 6 : 22-25.
- Khled, H.** (2016). Epidémiologie de l'infection à *A.baumannii* au CHU de marrakech. 131p.
- Kinoshita, N., Igarashi, M., Ikeno, S., Hori, M., Hamada, M.** (1999). *Saccharothrix tangerinus* sp .nov., the producer of the new antibiotic formamicin: taxonomic studies. *Actinomycetologica.*, 13: 20–31.

## L

- Lamari, L., Zitouni, A., Dob, T., Sabaou, N., Lebrihi, A., Germain, P., Seguin, E., Tillequin, F.** (2002). New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 55: 702–706.
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C. J., Jeong, B. C., Lee, S. H.** (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 7: 55-60.
- Leung, W. S., Chu, C. M., Tsang, K. Y., Lo, F. H., Lo, F. K., Ho, P. L.** (2006). Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest Journal.*, 129: 102 -109.
- Lin, M. F., Chang, K. C., Lan, C.Y., Chou, J., Kuo, J. W., Chang, C. K., Liou, M. L.** (2011). Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance Determinants of Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* in Five Proximal Hospitals in Taiwan. *Journal Infectious Diseases.*, 64: 222-227.
- Lister, P.** (2009). Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature.*, 462: 315-322.

## M

- Manikal, V. M., Landman, D., Saurina, G., Lal, H., Quale, J.** (2000). Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in brooklyn, New York: city wide, prevalence, interinstitutional spread and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis.*, 31:101-106.
- Marinelli, F. et Marcone, G. L.** (2011). Microbial secondary metabolites. *Comprehensive biotechnology (second edition)*. Burlington, American: Academic Press, pp 285-297.
- Mathloithi, N., El Salabi, A. A., Ben Jomaa-Jemili, M., Bakour, S., Al-Bayssari, C., Zorgani, A. A., Kraiema, A., Elahmur, O., Okdah, L., Rolain, J. M., Chouchani, C.** (2016). Early detection of metallo-beta-lactamase NDM-1-and OXA-23 carbapenemase producing *Acinetobacter baumannii* in Libyan hospitals. *Int. J. Antimicrob Agents* ., 48: 46-50.
- McConnell, M. J., Actis, L. et Pachon, J.** (2012). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37: 130–155.
- Moket, D., Comlan Zahoun, A. G., El Hamzaoui, S.** (2013). Résistance à l'imipénème par production de métallobeta-carbapénémase par *A. baumannii* et *P.aeruginosa* à l'hôpital militaire d'instruction mohamed V de Rabat. *analyse de biologie clinique.*, 71: 27-30.

**Morgan, D. J., Liang, S. Y., Smith, C. L., Johnson J. K., Harris, A. D., Furuno, J. P.** (2010). Frequent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination of gloves, gowns, and hands of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol.*, 31: 716–721.

## N

**Nordmann, P., Laurent, P., Rodriguez-Martinez J. M., Plésiat, P.** (2009). Naturally Occurring Class A  $\beta$ -Lactamases from the *Burkholderia cepacia* Complex. *Antimicrob Agents Chemother.*, 53: 876– 882.

**Nordmann, P.** (2004). *Acinetobacter baumannii*, le pathogène nosocomial par excellence. *pathologie biologique.*, 52 :301-303.

**Nukaga, M., Mayama, K., Hujer, A. M., Bonoma, R. A., Knox, J. R.** (2003). Ultra high resolution of class A beta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extended-spectrum SHV-2 enzyme. *J.Mol.Biol.*, 328: 289-301.

## O

**Obeidat, N., Jawdat, F., Al-Bakri, A. G., Shehabi, A. A.** (2014). Major biologic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environmental and patients' respiratory tract sources. *American Journal of Infection Control.*, 42: 401-404.

**Oki, T., Tenmyo, O., Hirano, M., Tomatsu, K. & Kamei, H.** (1990). Pradimicins A, B and C: new antifungal antibiotics. II. In vitro and in vivo biological activities. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 43: 763–770.

## P

**Pai, H., Kang, C. I., Byeon, J. H., Lee, K. D., Park, W. B., Kim, H. B., Kim, E. C., Oh, M. D., Choe, K. W.** (2004). Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents Chemother.*, 48: 3720-3728.

**Patel, J.J. et Brown, E. M.** (1969). Interactions of azotobacter with rhizosphere and root-surface microflora. *Plant and Soil.*, 31 : 273–281.

**Peleg, A. Y., Seifert, H., Paterson, D. L.** (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical microbiology reviews.*, 21: 538–582.

**Peymani, A., Nahaei M. R., Farajnia, S., Hasani, A., Mirsalehian, A., Sohrabi, N., Abbasi, L.** (2011). *Japanes journal of infectious diseases.*, 64: 69-71.

**Poirel L., Figueiredo, S., Papa Anna, P., Nordman, P.** (2009). Overexpression of the Naturally Occurring blaOXA-51 Gene in *Acinetobacter baumannii* Mediated by Novel Insertion Sequence ISAb9. *Antimicrobial agents and chemotherapy.*, 53: 4045 - 4047.

**Poirel, L., Menuteau, O., Agoli, N., Cattoen, C., Nordman, P.** (2003). Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a french hospital. *J. Clin. Microbiol.*, 41 : 3542-3547.

- Poirel, L. et Nordmann, P.** (2006). Résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. Antibiotiques. Edition Masson,8: 100-107.
- Prince, C.P.** (2009). Practical Manual of Medical Microbiology. Edition: Jaypee brothers medical publishers, USA. pp112-114.

## Q

- Qureshi,Z. A., Hittle, E. L., O'Hara, A. J., Rivera, I. J., Syed, A., Shields, K. R., Pasculle, W. A., Ernst, K. R., Doi,Y.** (2015). Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Beyond Carbapenem Resistance. Clinical Infectious Diseases., 60: 1295–303.

## R

- Rio, Y., Pina, P., Jurin, F., Allouch, P., Didion, J., Chardon, H.** (2002). Sensibilité d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques, isolés chez des malades de soins intensifs français en 1998.Phénotypes de résistance aux bêtalactamines. Etude escrime. Pathologie Biologie., 50: 12-17.
- Rodriguez-Villalobos, H. et Struelens, M. J.** (2006). Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Réanimation. Edition Masson, 15: 205-213.

## S

- Saha, R., Saha, N., Donofrio, R. S., Bestervelt, L. L.** (2013). Microbial siderophores: a mini review. J. Basic Microbiol., 53, 303–317.
- Sarkar S., Saha M., Roy D., Jaisankar P., Das S., Gauri Roy L., Gachhui R., Sen T., Mukherjee J.** (2008). - Enhanced production of antimicrobial compounds by three salt-tolerant actinobacterial strains isolated from the sundarbans in a niche-mimic bioreactor. Mar. Biotechnol., 10: 518-526.
- Sato, K. et Nakae, T.** (1991). Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic résistance. J Antimicrob Chemother., 28: 35-45.
- Shirling, B. et Gottlieb, D.** (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. Int. J. Syst. Bacteriol., 16: 3313-3340.
- Shivlata, L. et Satyanarayana, T.** (2015). Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. Front Microbiol., 6: 1-29.
- Siegel, D. J., Rhinehart, E., Jackson, M., Chiarello, L.** (2006). Guideline for isolation precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare settings. J. Infect. Dis., 24: 218-230.

**Sileem, E. A., Ahmed, M. S., Meleha, S.M.** (2017). *Acinetobacter baumannii* in ICU patients: A prospective study highlighting their incidence, antibiotic sensitivity pattern and impact on ICU stay and mortality. *Egyptain Journal of Chest Diseases and Tuberculosis.*, 66: 693-698.

**Sinha, M., Srinivasa, H., Macaden, R.** (2007). Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med.* p 63-67.

**Solecka, J., Zajko, J., Postek, M., Rajnisz, A.** (2012). Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. *Open Life Sci.*, 7: 373-390.

**Solanki, R., Khanna, M., Lal, R.** (2008). Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian J. Microbiol.*, 48: 410-431.

## T

**Takeuchi, M., Takahashi, S., Enokita, R., Sakaida, Y., Haruyama, H., Nakamura, T., Katayama, T., Inukai, M.** (1992). Galacardins A and B, new glycopeptide antibiotics. *J. Antibiot. (Tokyo).*, 45: 297-305.

**Tanaka, Y. et Omura, S.** (1990). Métabolism and products of Actinomycetes an introduction. *Actinomycetol.*, 4: 13-14.

**Tuner, P.J. et Greenhalgh, J. M.** (2000). MYSTIC Study Group (Europe). The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European Hospitals. *Clin Microbiol Infect.*, 9: 563-567.

## U

**Unal, S. et Garcia-Rodriguez, J. A.** (2005). Activity of meropenem and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. Isolated in the MYSTIC program, 2002-2004. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 53: 265-271.

**Uwingabiye, J., Frikh, M., Lemnouer, A., Bssaibis, F., Belefquih, B., Maleb, A., Dahraoui, S., Belyamani, L., Bait, A., Haimeur, C., Louzi, L., Ibrahimi, A.** (2016). *Acinetobacter* infections prevalence and frequency of the antibiotics resistance: comparative study of intensive care units versus other hospital units. *Pan African Medical Journal.*, 23: 191-197.

## V

**Van Eldere, J.** (2003). Multicenter surveillance *Acinetobacter baumannii* susceptibility patterns in nosocomial infections. *J Antimicrob Chemother.*, 51:347-352.

**Velayudham, S. et Murugan, K.** (2012). Diversity and Antibacterial Screening of Actinomycetes from Javadi Hill Forest Soil, Tamilnadu, India. *Journal of Microbiology Research.*, 2: 41-46.

## W

**Wang, Z. X., Li, S. M., Heide, L.** (2000). Identification of the coumermycin A1 biosynthetic gene cluster of *Streptomyces rishiriensis* DSM 40489. *Antimicrob Agents Chemother.*, 44: 3040–3048.

**Wieczorek, P., Sacha, P., Hauschild, T., Zorawski, M., Krawczyk, M., Tryniszewska, E.** (2008). Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*- the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. *Folia Histochem cytobiol.*, 46: 257-267.

## Y

**Yala, D.** (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb.*, 91 :5-8.

**Yekkour, A., Meklat, A., Bijani, C., Toumatia, O., Errakhi, R., Lebrihi, A., Mathieu, F., Zitouni, A., Sabaou, N.** (2015). A novel hydroxamic acid-containing antibiotic produced by a Saharan soil-living *Streptomyces* strain. *Applied Microbiology.*, 60: 589—596.

**Yongrui, L. et Xiangqun, L.** (2015). Detection of AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii* in the Xuzhou region and region and analysis of drug resistance. *Experimental And Therapeutic Medicine.*, 10 : 933-936.

## Z

**Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N.** (2005). Nocardiosis and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Res. Microbiol.*, 156: 984–993.

## Annexe

**Annexe 1.** Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour la souche de référence *E. coli* 27853 de référence utilisées pour le contrôle de qualité

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques
Amikacine	30 µg	19 – 26
Céftazidime	30 µg	-----
Ciprofloxacine	5 µg	30 – 40
Colistine	10 µg	11 – 17
Chloramphénicol	30 µg	21 – 27
Doxycycline	30 µg	18 – 24
Gentamycine	10 µg	19 – 26
Imipenème	10 µg	26 – 32
Pipéracilline	100 µg	24 – 30
Tétracycline	30 µg	18 – 25
Ticarcilline	75 µg	24 – 30
Ticarcilline + Ac clavulanique	75/10 µg	24 – 30
Tobramycine	10 µg	18 – 26
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	23 – 29

\* Tableau extrait du Document M100 – S24. Vol. 34, n°1. **2014**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-four informational supplement

## Annexe 2. Lecture des résultats de la galerie API 20 NE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTAS	
				NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 5 min</u> incolore   rose-rouge	
			réduction des Nitrates en azote	<u>Zn / 5 min</u> Rose   Incolore	
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptOPhane)	<u>JAMES / immédiat</u> incolore vert pâle / jaune   Rose	
<u>GLU</u>	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	Jaune	orange / rose / rouge
<u>URE</u>	Urée	0,76	UREase	Jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	Jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	Jaune
<u>GLU</u>	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	Transparence	Trouble
<u>ARA</u>	L-arabinose	1,4	assimilation (ARABinose)	Transparence	Trouble
<u>MNE</u>	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	Transparence	Trouble
<u>MAN</u>	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	Transparence	Trouble
<u>NAG</u>	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	Transparence	Trouble
<u>MAL</u>	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	Transparence	Trouble
<u>GNT</u>	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	Transparence	Trouble
<u>CAP</u>	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	Transparence	Trouble
<u>ADI</u>	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	Transparence	Trouble
<u>MLT</u>	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	Transparence	Trouble
<u>CIT</u>	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	Transparence	Trouble
<u>PAC</u>	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhényLACétique)	Transparence	Trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

**Annexe 3.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Acinetobacter spp* (CLSI)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarcilline	75 µg	≤ 14	15 – 19	≥ 20	≥ 128	32 – 64	≤ 16
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10 µg	≤ 14	15 – 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2 - 64/2	≤ 16/2
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128	32 – 64	≤ 16
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	10 µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Nétilmicine	CMI	-----	-----	-----	≥ 32	16	≤ 8
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Lévofloxacine	5 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Doxycycline	30 µg	≤ 9	10 – 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38
Colistine	CMI	-----	-----	-----	≥ 4	-----	≤ 2

\* Tableau extrait du Document M100 – S24. Vol. 34, n°1. **2014**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; twenty-four informational supplement.

**Annexe 4.** La composition de Milieu ISP2

Composition	Quantité
Extrait de levure	4g
Extrait de malt	4g
Glucose	4g
Agar	12g
Eau distillée	1000 ml
Ph	7.2

**Annexe 5.** Préparation des dilutions d'antibiotiques pour les CMI

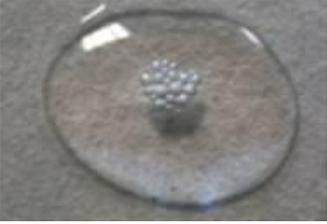
Etape	Concentration $\mu\text{g/ml}$	ATB (ml)	Eau physiologique (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>Solution mère</b>	5120			5120	512
<b>1</b>	5120	2	2	2560	256
<b>2</b>	5120	1	3	1280	128
<b>3</b>	5120	1	7	640	64
<b>4</b>	640	2	2	320	32
<b>5</b>	640	1	3	160	16
<b>6</b>	640	1	7	80	8
<b>7</b>	80	2	2	40	4
<b>8</b>	80	1	3	20	2
<b>9</b>	80	1	7	10	1
<b>10</b>	10	2	2	5	0,5
<b>11</b>	10	1	3	2,5	0,25
<b>12</b>	10	1	7	1,25	0,125

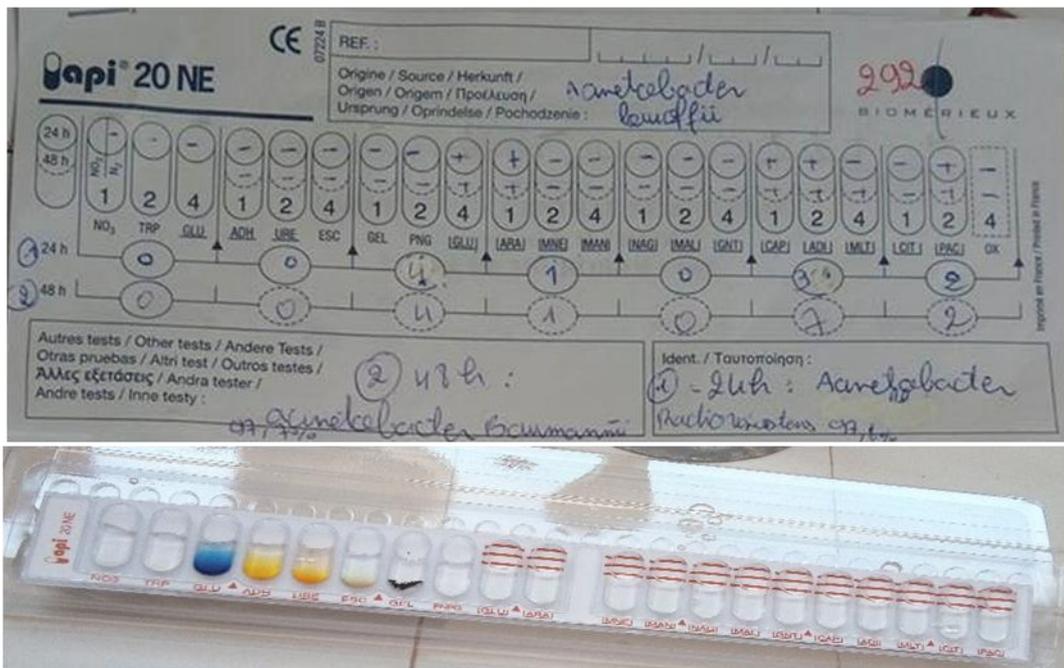
**NB.** 2 ml de chaque concentration intermédiaire sont ajoutée à 18 ml du milieu MH

**Annexe 6.** Résultat de la lecture du test d'oxydase

Observation	Interpretation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le Ndiméthyl paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite <b>oxydase-</b> .

**Annexe 7. Résultat de la lecture du test de la catalase**

Observation	Interpretation	Conclusion
	<p>La bactérie catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> (visible par formation de bulles).</p>	<p>La bactérie possède la catalase, elle est dite <b>catalase+</b>.</p>



**API 20 NE** REF: 07224 B

Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Πρωτολευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie: *Acinetobacter baumannii*

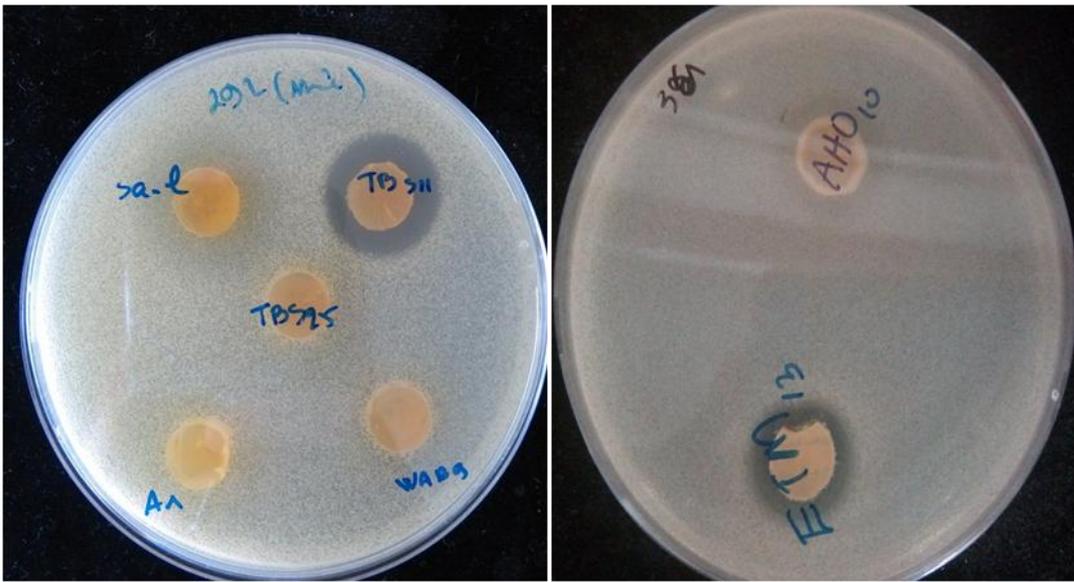
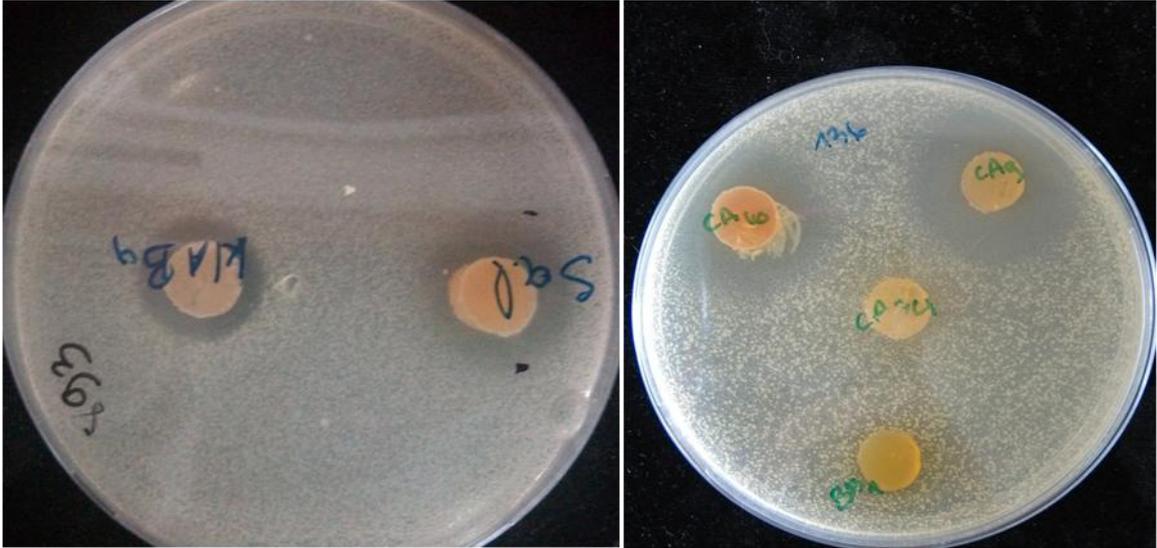
299 BIOMERIEUX

24 h	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
48 h	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	3	2	0	0	2	0	2

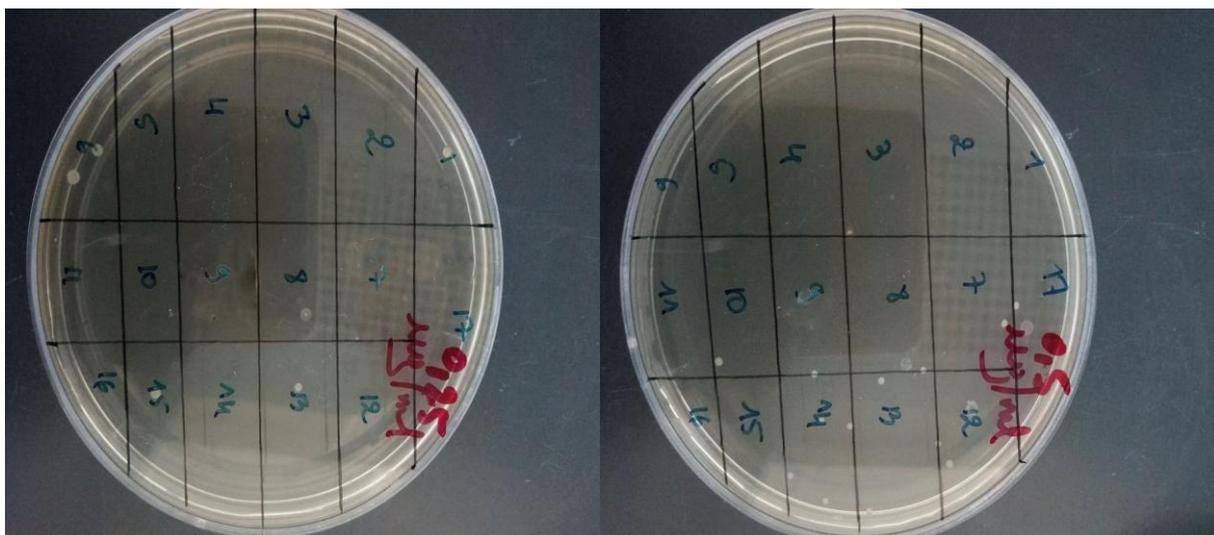
Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy:

Ident. / Ταυτοποίηση: *Acinetobacter baumannii*

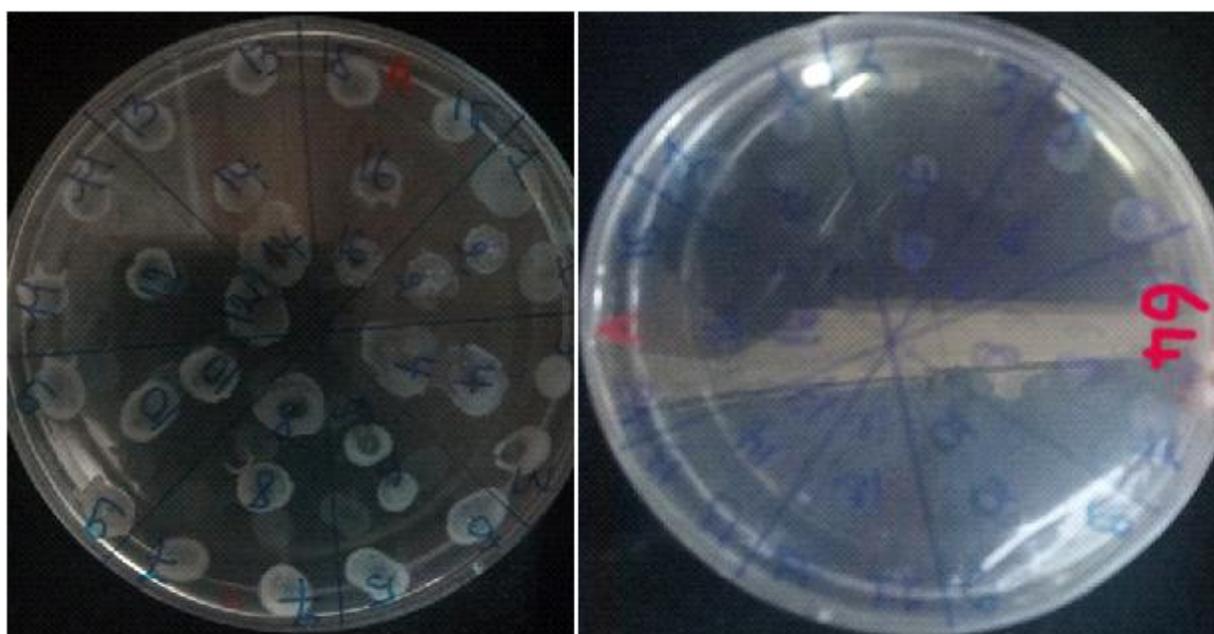
**Annexe 8. Résultat de l'identification par la galerie API 20 NE**



**Annexe 9.** Activité antibactérienne des souches d'actinobactéries contre les *A. baumannii*



**Annexe 10.** Résultats des CMI de colistine contre les souches d'*A. baumannii*



**Annexe 11.** Résultats des CMI d'antibiotique W9 contre d'*A. baumannii*