

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

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Option : Microbiologie Moléculaire et Médicale

Thème

**Caractérisation des mécanismes de
résistance aux β -lactamines chez des
souches *d'Acinetobacter baumannii*
isolées à l'Etablissement hospitalier
universitaire d'Oran**

Présenté par :
M^{elle} ZAIDI FATMA ZOHRA

Membre du Jury :
Présidente : M^{elle} YANAT.B
Promoteur : M^r TOUATI.A
Co-promoteur : M^r BAKOUR.S
Examinatrice : M^{me} BELHADI .K
Examineur : M^r LAADJOUZI.R

Promotion 2013/2014

Remerciements

J'adresse mes vifs remerciements à mes encadreur le Pr A TOUATI et Mr S BAKOUR pour leur disponibilité et leurs encouragements tout au long de la préparation de mon mémoire

Je remercie les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail

Mes remerciements vont également au Dr YR DALI YAHIA chef de service de microbiologie de l'EHU d'Oran, qui, en me fournissant les souches bactériennes m'a permis de réaliser ce travail et qui a toujours répondu à mes doléances.

Je remercie également toute l'équipe de microbiologie de l'EHU d'Oran.

Je ne saurais remercier assez le Dr MANSOURI Mohamed qui m'a permis de prendre contacte avec le laboratoire de microbiologie d'Oran

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

En premier lieu a mes très chers parents, que j'aime plus que tout .

A mes frères, a ma belle sœur

A mes tantes et oncles, a mes exceptionnels cousins, cousines

A patty

A mes amis et à laila , taous , et safia

Et surtout a mon petit neveu et à fauvette

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Partie I : Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Souches bactériennes..... | 07 |
| 2. Identification des souches | |
| 3. Etude de la sensibilité des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques | 07 |
| 4. Test phénotypique | 08 |
| 4.1.DD-TEST..... | 09 |
| 4.2 .Test de Hodge | 09 |
| 4.1.Recherche de la production de métallos β-lactamases (MβL)..... | 09 |
| 5. Identification moléculaire des gènes de résistances..... | 10 |

Partie II : Résultats

| | |
|---|----|
| 1. Recueil des souches bactériennes | 11 |
| 1.1. Répartition des souches par services hospitaliers | 11 |
| 1.2. Répartition des souches par type de prélèvements | 11 |
| 2. Sensibilité des souches aux antibiotiques | 12 |
| 3. Résultats des phénotypes de résistance aux antibiotiques | 15 |
| 3.1. DD-test | 15 |
| 3.2. Production de carbapénémases | 15 |
| 3.3. Recherche de métallos-β-lactamases | 16 |
| 4. classification des enzymes de résistances | |

Partie III : discussion et conclusion

| | |
|--------------------------------|----|
| Discussion et conclusion | 17 |
|--------------------------------|----|

Liste d'abréviation

AK : Amikacine
ATCC : American type culture collection
BLSE : β -lactamase à spectre élargi
C1G : Céphalosporine de 1ère génération
C2G : Céphalosporine de 2ème génération
C3G : Céphalosporine de 3ème génération
C4G : Céphalosporine de 4ème génération
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ : Céftazidime
CHU : centre hospitalier universitaire
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CIP : ciprofloxacine
CS : Colistine
EDTA : Ethylène-diamine-tétra acétique
EHU : établissement hospitalier universitaire
FEP : Céfépime
GES : Guyana Extended Spectrum
GN : gentamicine
gyr A : Gène codant pour la sous-unité A de la gyrase
H : hyper production
I : Intermédiaire
IMP : Imipenème
IS : séquence d'insertion
KT : catheter
M β L : Métallo- β -lactamase
MH : Mueller hinton
MLST : multilocus sequence typing
ND : non déterminé
OXA : Oxacilline
parC : Gène codant pour la sous-unité C de la topoisomérase IV.
PCR : Polymeras Chain Reaction
PER : Pseudomonas extended resistant
PIP : Pipéracilline
PFGE : électrophorèse en champ pulsé
R : Résistant
RIF : rifampicin
S : Sensible
SHV : Sulfhydryl reagent variable
SIM : Seoul imipenemase
TCC : Ticarcilline + acide clavulanique
TEM : Temoneira
TIC : Ticarcilline
TOB : Tobramycine
VEB : Vietnam extended spectrum
VIM : Verona integron-encoded MBL

Liste des tableaux

Tableau N°I : Antibiotiques testés 08
Tableau N°II: diamètre des zones d'inhibition (mm) ainsi que les profils de résistance des
souches aux antibiotiques13

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 :répartition mondial des carbapénèmases | 05 |
| Figure 2 : Répartition des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> recueillies par services | 11 |
| Figure 3 : Répartition des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> par type de prélèvements .. | 11 |
| Figure 4 : Taux de résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux différents antibiotiques testés | 12 |
| Figure 5 : image d'un DD-test positif sur gélose Muller Hinton chez la souche d' <i>Acinetobacter baumannii</i> | 15 |
| Figure 6 : Test de Hodge positif sur McConkey | 16 |
| Figure 7 : Résultat du test de synergie entre l'IMP et l'EDTA | 16 |

L'histoire du genre d'*Acinetobacter* remonte au début du 20^{ème} siècle, quand, un microbiologiste néerlandais (Beijerinck), décrit un organisme nommé *Micrococcus calcoaceticus*. Actuellement le genre *Acinetobacter* appartient à la famille des *Moraxellaceae*, ordre des *Pseudomonadales*, classe des *Gammaproteobacteria*, phylum des *Proteobacteria*, domaine des *Bacteria* (Euzéby, 2010). Ce genre comprend 34 espèces génomiques dont l'espèce la plus importante en clinique est *Acinetobacter baumannii*. En effet, elle représente plus de 90 % des isolats cliniques, et possède des caractéristiques qui la différencie des autres espèces en termes de pathogénicité, d'épidémiologie et de résistance aux antibiotiques (Hidri, 2012). A l'examen direct, *A.baumannii* apparaît comme un diplo-coccobacille à Gram négatif de 0,9 à 1,9 µm de diamètre, avec une longueur de 1,5 à 2,5 µm (Towner ,2006).Elle est aérobie stricte , immobile, non sporulée, associée en paires ou en courtes chainettes, parfois capsulée (Hidri,2012) .Oxydase négative, catalase positive, ne fermente pas le glucose mais l'oxyde, citrate positive , gélatinase négative, nitrate réductase négative et indole négatif (Peleg et al., 2008). Son isolement se fait en 24h sur milieux conventionnels, et sur milieux sélectifs des bacilles à Gram négatif comme la gélose de Mac Conkey ou la gélose Drigalski (Denis et al., 2007). Les colonies sont arrondies, blanches ou de couleur crème, lisses à bords réguliers, la température de croissance est entre 37 et 42°C (Towner , 2006). Seules les espèces *A. baumannii* et certaines souches du groupe génomique 13 T&U (*A. nosocomialis* sp. nov) sont capables de croître à 44 °C : caractère particulièrement utile pour leur identification. (Godineau Gauthey et al., 1988)

A.baumannii est une bactérie de l'environnement présente dans les sols , les eaux de surface, les eaux usées et les produits alimentaires (Gillespie et Hawkey, 2006 ; Howard et al., 2012). Elle est fréquemment retrouvée en milieu hospitalier au niveau du matériels à usage médical et chirurgical. Des épidémies hospitalières sont parfois observées en cas de contaminations des humidificateurs de l'air et d'appareil d'assistance respiratoire (Avril et al., 1992) *A.baumannii* est capable de résister à certains désinfectants à base d'ammonium quaternaire et de proliférer dans des flacons de désinfectants. Une autre particularité propre à cette bactérie est sa faculté à survivre de façon prolongée (> 8 j) dans un environnement sec (Howard et al.,2012).

Elle est de portage asymptomatique (20 à 25 % des individus sains sont porteurs) (Siegrist, 2000). Cette grande diversité facilite la transmission de ce germe. Ainsi le manuportage constitue la voie de transmission la plus fréquente (Nordmann, 2004).

Considéré comme des microorganismes de faible pathogénicité, *A.baumannii* est inscrit depuis 20 ans parmi les bactéries les plus redoutées dans les services de réanimation. Elle est considérée comme un agent d'infections nosocomiales sévères sporadiques ou épidémiques notamment chez des patients affaiblis (traumatismes multiples, cancer, immunodépression...), et associée à une morbidité et une mortalité importantes (20 à 60 %) (O'Shea, 2012). Elle semble posséder certains facteurs pouvant accroître sa virulence, comme : la formation de biofilm (Gordon et Wareham, 2010). Les infections les plus fréquentes causées par *A. baumannii* sont les pneumopathies chez les patients sous ventilation (Evillard et Joly-Guillou, 2012). Elle peut aussi être responsable de méningites, de septicémies, de pleurésies, de conjonctivites, de sinusites, de suppurations cutanées, d'infections urinaires, d'ulcérations intestinales et de péricardites (Delbos, 2012).

A.baumannii est naturellement résistante à l'ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération ertapénème, triméthoprim, fosfomycine, et peu sensible à l'aztreonam (CA-SFM, 2013).

La production constitutive d'une cephalosporinase de bas niveau (AmpC) est à l'origine de la résistance naturelle aux aminopénicillines, à la céfalotine et à la céfoxitine (mais pas au sulbactam) (Bou et Martinez-Beltran, 2000). En plus *A.baumannii* produit naturellement une oxacillinase chromosomique OXA-51 ou OXA-69like (Nevgun et al., 2009). Le spectre de substrat de cette oxacillinase est limité à quelques β -lactamines (pénicillines, céfalotine, oxacilline) mais comprenait également l'imipénème et le méropénème dans une plus faible mesure (Poirel et Nordman, 2006).

L'un des mécanismes de résistance le plus courants chez *A.baumannii* est la production de β -lactamases. Dès le début des années 1980, la description de résistances acquises aux pénicillines a été rapportée, avec l'identification des pénicillinases TEM-1, TEM-2, CARB-5 et SCO-1. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines à large spectre (ticarcilline, piperacilline) et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (Poirel et Nordmann, 2006).

L'AmpC naturelle d'*A. baumannii* peut être surexprimée lorsqu'une séquence d'insertion (IS) appelée IS*Aba1* apporte des séquences promotrices fortes et les insère en amont du gène AmpC. Cette surexpression conduit à une élévation importante des CMI des β -lactamines, affectant en particulier la ceftazidime, mais reste sensible au céfépime (Decré, 2012).

Contrairement à ce qui est observé chez les entérobactéries, la description de BLSE au laboratoire chez *A. baumannii* reste difficile, toute fois, plusieurs BLSE de type TEM, SHV, CTX-M, GES, SCO PER et VEB ont été décrites chez *A.baumannii* (decré, 2012), avec une prédominance des BLSE de type PER-1 et VEB-1 (giamerlou et al., 2008).

Les carbapénèmes sont parmi les antibiotiques de choix pour le traitement des infections nosocomiales dues à *A.baumannii*. Cependant en raison de l'émergence des isolats résistants leur efficacité est moindre. En Algérie le taux de résistance à l'imipénème se situe aux alentours de 5% (Amziane et al.,2006). Cette résistance est principalement due à la production de carbapénémases regroupées en trois classes. Il s'agit des carbapénémases de type oxacillines (classe D), des métallob- β -lactamases (classe B) et des carbapénémases de classe A (Kempf et al.,2012). Cinq sous-groupes d'oxacillines ont été identifiés actuellement: OXA-51/69 naturelle et quatre groupes d'oxacillines acquises (OXA-23, OXA-24/40, OXA-58, et OXA-143). OXA-23 (appelée ARI-1) fut la première oxacilline capable d'hydrolyser l'imipénème, identifiée initialement en Écosse en 1995, puis en France. C'est la plus fréquemment décrite, et largement diffusée à travers le monde (Zarrili et al.,2013). Le gène *bla*_{OXA23} peut être chromosomique ou plasmidique. Il a été rapporté que la séquence d'insertion *ISAbal* peut être située en amont du gène de cette oxacilline (Poirel et Nordmann, 2008). En Afrique les souches d'*A.baumannii* produisant *bla*_{OXA-23} ont été isolées en Afrique du Sud, en Libye, en Egypte, au Nigéria, au Sénégal et à Madagascar (Zarrilli et al., 2009 ; Olaitan et al.,2013). En Algérie une seule souche d' *A. baumannii* portant le gène *bla*_{OXA-23} à été obtenu en 2004 (Mugnier et al.,2010). L'enzyme OXA - 24/40 possède 63% d'homologie avec l'OXA-23 et a été identifié pour la première fois chez une souche de *A. baumannii* isolée en Espagne. Ce gène a été identifié à la fois sur des emplacements chromosomiques et plasmidiques (Zarrili et al. ,2013). Le gène *bla*_{OXA-58} a été identifié dans une souche isolée en France, en Turquie, en Espagne en Irak en Italie et en Argentine (Poirel et Nordmann ,2008). En Algérie, le gène *bla*_{OXA-58} a été rapporté chez douze isolats cliniques d'*A. baumannii* isolés au niveau du CHU de Tlemcen (Drissi et al., 2010).

Concernant les métallob- β -lactamases se sont des enzymes inhibées in vitro par l'EDTA. Elles sont capables d'hydrolyser toutes les β -lactames à l'exception de l'aztreonam (Maltezou, 2008)

. Quatre sous types de MBL ont été décrite chez *A.baumannii* VIM, IMP - SIM retrouvées en Asie et NDM (Poirel et Nordmann,2008). Ces enzymes confèrent un niveau élevé de résistance aux carbapénèmes, avec des CMI supérieures à 256 mg/l dans la plupart des cas.

Ces enzymes hydrolysent fortement toutes les bêta-lactamines à l'exception de l'aztreonam. Dans de nombreux cas, les souches productrices de MBL produisent aussi des BLSEs. Les gènes de ces MBLs sont, le plus souvent, plasmidiques et associés au sein d'intégrons et de transposons, structures qui assurent la mobilité de ces gènes de résistance et la multirésistance aux antibiotiques des souches (Nordmann et Carrer, 2011). En Algérie, la première MBL de type NDM-1 a été isolée chez un patient Algérien hospitalisé au niveau d'une unité de soins intensifs de l'hôpital d'Oran, et transféré au service de soins intensifs de l'hôpital Bicêtre en Juillet 2011 en France. (Mesli et al., 2013).

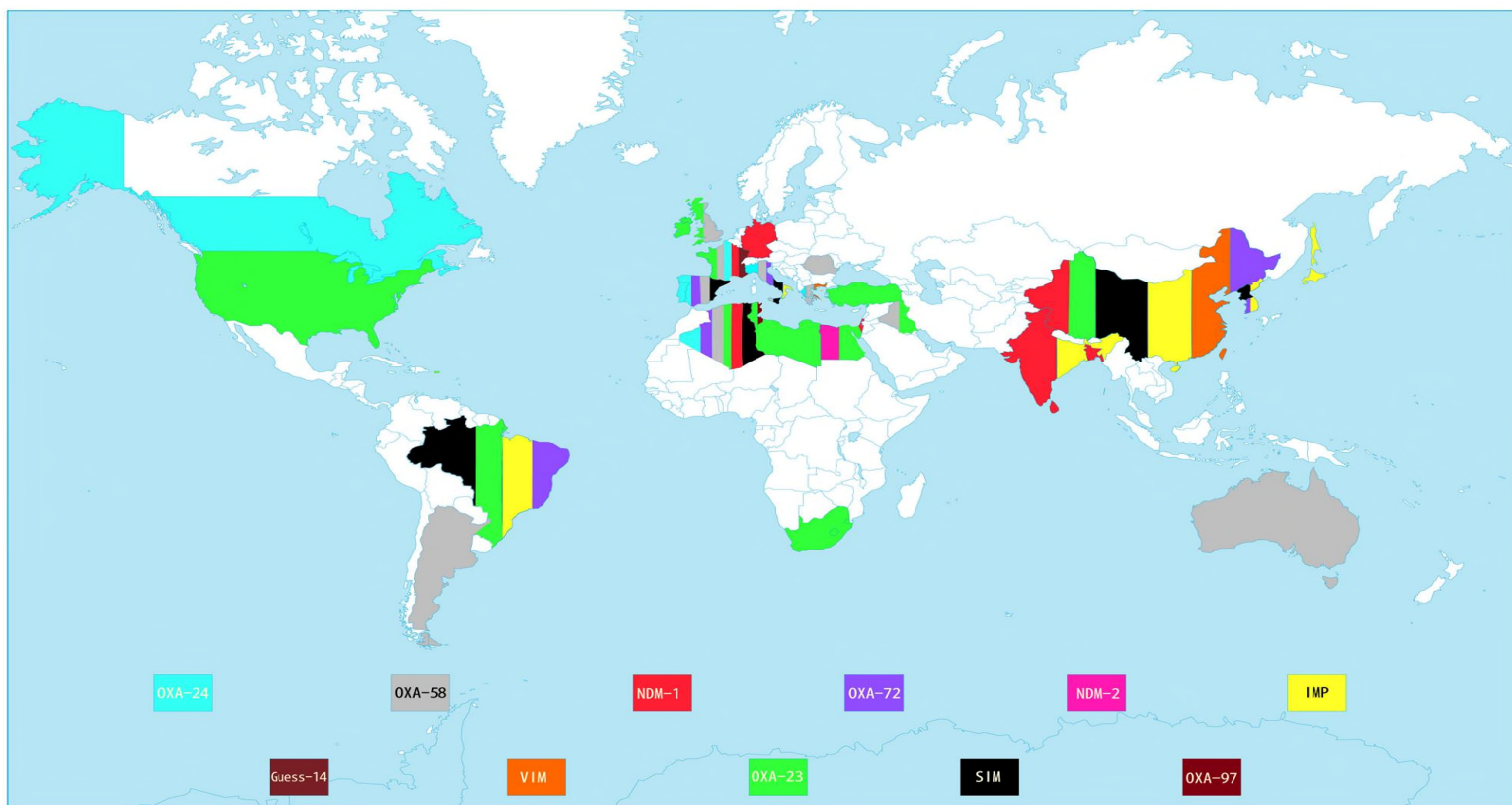


Figure 1 : répartition mondiale des carbapénèmases

(Poirel et Nordmann, 2008 ; Bakour et al., 2012; zarrilli et al., 2013)

Les infections nosocomiales à *A. baumannii* sont responsables d'une augmentation de la mortalité et d'une majoration de la durée d'hospitalisation ainsi que de son coût.

L'imipénème a constitué pendant des années le « Gold standard » dans le traitement des infections à *A. baumannii*. Cependant l'émergence de résistances vis-à-vis de cette molécule dans de nombreux centres constitue un important challenge thérapeutique (Naija et al., 2009). La recherche bibliographique réalisée par Kempf et Rolain, rapporte uniquement 139 citations pour *A. baumannii* de l'année 1980 à 1999, par la suite 2000 citations ont été signalées de l'année 1999 à la fin de l'année 2010 (Kempf et Rolain, 2012). La recherche bibliographique que nous avons effectuée sur pubmed en utilisant *A. baumannii* a montré 2323 citations pour *A. baumannii* de l'année 2011 à 2014, ce qui indique que *A. baumannii* est une question d'actualité dans le monde, et que la résistance aux carbapénèmes a progressivement augmenté au cours des dix dernières années.

L'Algérie semble être un réservoir potentiel de ces enzymes, cependant la recherche bibliographique que nous avons réalisée sur pubmed en utilisant *A. baumannii* en Algérie a rapporté uniquement 15 publications depuis 2008, réalisées uniquement au niveau de quelques villes (Alger, Oran, Sétif, Annaba, Tizi-Ouzou, Tlemcen et Sidi-Bel Abas). Dans l'étude rapportée par Découser en 2013, la première NDM-1 isolée en France provenait d'un patient initialement hospitalisé à Tizi-Ouzou (Découser et al., 2013). Par la suite huit autres NDM-1 ont été rapportées dans différentes villes de France, dont six provenaient de patients hospitalisés dans différentes villes d'Algérie (Alger, Constantine, Sétif et Tlemcen), une d'un patient hospitalisé auparavant en Tunisie, et une d'un patient hospitalisé auparavant en Egypte (Bonnine et al., 2013). Ce qui nous laisse croire que la première enzyme NDM-1 retrouvée en Algérie en 2012 pourrait être endémique.

La diffusion des souches d'*A. baumannii* multirésistantes est-elle actuellement présente dans les hôpitaux algériens ?

Par quel mécanisme ces souches sont-elles résistantes ?

C'est dans cette optique que nous proposons d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques ainsi que les caractérisations des mécanismes de résistance chez des souches d'*A. baumannii* isolées au niveau de l'EHU d'Oran.

1. Souches bactériennes

Au total , 48 souches d'*A. baumannii* ont été collectées au cours de l'année 2012. Provenant de divers prélèvements, elles ont été isolées par le laboratoire de bactériologie de l'établissement hospitalier universitaire d'Oran, puis conservées et acheminées vers le laboratoire de microbiologie de l'Université A/MIRA, Bejaia.

Les souches conservées ont été repiquées sur gélose PCA, et elles ont été identifiées grâce aux techniques conventionnelles (croissance à 44°C, coloration de Gram, oxydase négative), et par galerie API 20 NE (Bio-mérieux, France), l'identification est confirmée par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Cette dernière a été réalisée par M^r S. BAKOUR au niveau du l'unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix- Marseille-Université, France.

2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité des souches d'*A. baumannii* vis-à-vis des antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (communiqué du CA-SFM,2013). Les antibiotiques testés sont donnés dans le tableau N°I

Tableau N°I : Antibiotiques de marque oxoid testés (CA-SFM, 2013)

| Antibiotique | Abréviation | Charge du disque en µg | Diamètre critique (mm) | |
|--------------------------|-------------|------------------------|------------------------|------|
| | | | S | R |
| Céftazidime | CAZ | 30 | ≥21 | < 19 |
| Céfépime | FEP | 30 | ≥21 | < 19 |
| Imipénème | IMP | 10 | ≥24 | < 17 |
| Pipéracilline | PIP | 75 | ≥18 | < 12 |
| Ticarcilline | TIC | 75 | ≥22 | < 18 |
| Ticarcilline-clavulanate | TCC | 75+10 | ≥22 | < 18 |
| Colistine | CS | 10 | ≥15 | < 15 |
| Tobramycine | TOB | 10 | ≥16 | < 16 |
| Amikacine | AK | 30 | ≥17 | < 15 |
| Gentamicine | GN | 10 | ≥16 | < 16 |
| Rifampicine | RIF | 30 | ≥19 | < 14 |
| Ciprofloxacine | CIP | 5 | ≥22 | < 22 |

3. Détection des phénotypes de résistance aux β -lactamines

3-1 DD-test

La détection de la production d'une β -lactamase à Spectre Etendu (BLSE), a été effectuée par le DD-TEST qui consiste à placer des disques de ceftazidime (CAZ) et cefépime (FEP) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque de (TCC) (ticarcilline-clavulanate) et en additionnant 10 μ L de cloxacilline sur chaque disque.

La présence d'une BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie entre les disques de CAZ, FEP et de TCC (Mansour et *al.*, 2008).

4. Détection des carbapénèmases

4.1 Test de Hodge

La détection de la production de carbapénémase a été effectuée par le test de Hodge. Des boîtes de Pétri contenant la gélose Mac conkey additionnée de 1% de solution ZnSo₄ sont ensemencées avec une souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922. Un disque d'imipénème contenant 10 μ L de cloxacilline et déposé au milieu de la boîte. Les souches à tester sont ensemencées sur la gélose sous forme de stries déposés à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte en présence d'un témoin positif et d'un autre négatif. Le test de Hodge est interprété comme positif par la présence d'une distorsion de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E.coli* (CA-SFM 2013).

4.2 Test à l'EDTA :

Les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'IMP et IMP+ 5 μ l d'EDTA sont mesurés et comparés entre eux. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP+EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IMP seul d'au moins 6mm sont considérées comme productrices de M β L (Yong et *al.*, 2002) .

4.3 Recherche de synergie

Un DD-test est réalisé avec un disque d'imipénème (10 μ g) déposé à 15mm d'un disque vierge imbibé de 10 μ l de solution d'EDTA à 0,5 M, pH 8 (Jeong et *al.*, 2006).

La présence d'une M β L est détectée par visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA qui est un inhibiteur des M β L.

5-Détection des gènes de résistance par amplification génétique

à fin de détecter la présence des gènes codant pour les carbapénèmases ; *bla*_{OXA51-like}, *bla*_{OXA23-like}, *bla*_{OXA24-like} et *bla*_{NDM-1}

Une PCR standard est réalisée par M^r S. BAKOUR au niveau de l'unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille-Université, France.

1. Recueil des souches bactériennes

Les informations correspondant aux 48 souches sont données dans le tableau N°III (Annexe)
 On note d'après la figure 2, que les souches d'*A. baumannii* sont principalement isolées au niveau des services de réanimation et de chirurgie avec des taux respectivement de **64 % (31 souches)** et **27% (13 souches)**.

Dans la figure 3, on constate que les souches d'*A. baumannii* sont plus fréquemment isolées à partir des prélèvements trachéaux et de pus avec des taux respectivement de **25% (17souches)** et de **22.91% (11 souches)**

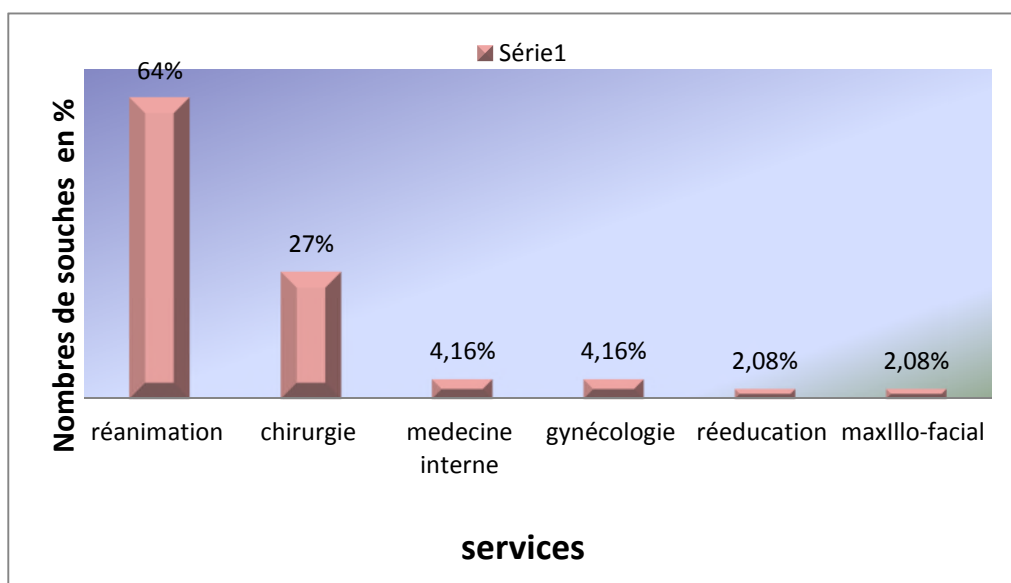
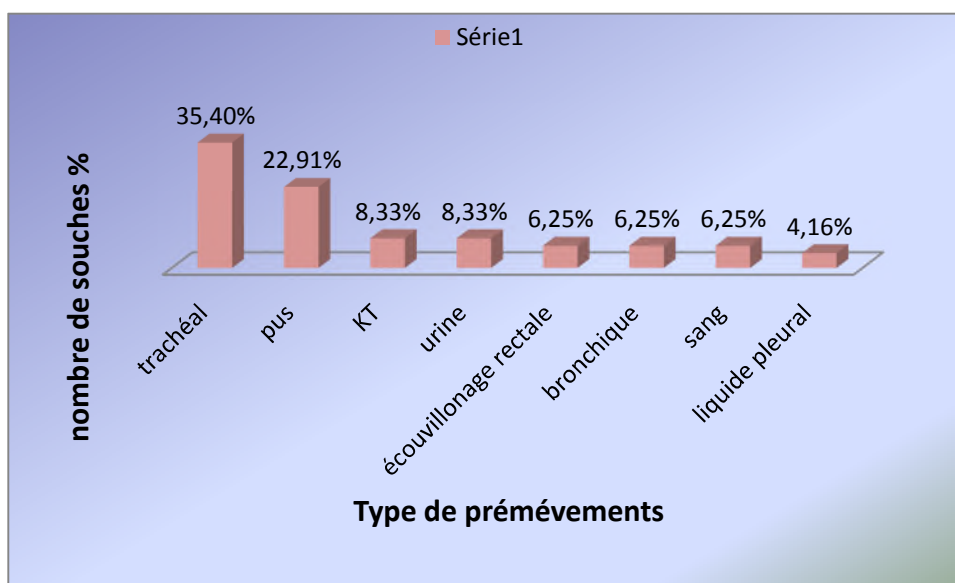


Figure 2: Répartition des souches d'*A. baumannii* par service



KT : cathéter

Figure 3 : Répartition des souches d'*A. baumannii* par type de prélèvements

30 souches ont été isolées chez des patients de sexe masculin, contre 18 souches isolées chez des patients de sexe féminin.

2. Résistance des souches aux antibiotiques

D'après la figure 4, on observe des taux de résistance élevés aux différents antibiotiques testés, allant de 6.25% pour la rifampicine à 91.66% pour la ciprofloxacine. Cependant aucune résistance n'est observée pour la colistine

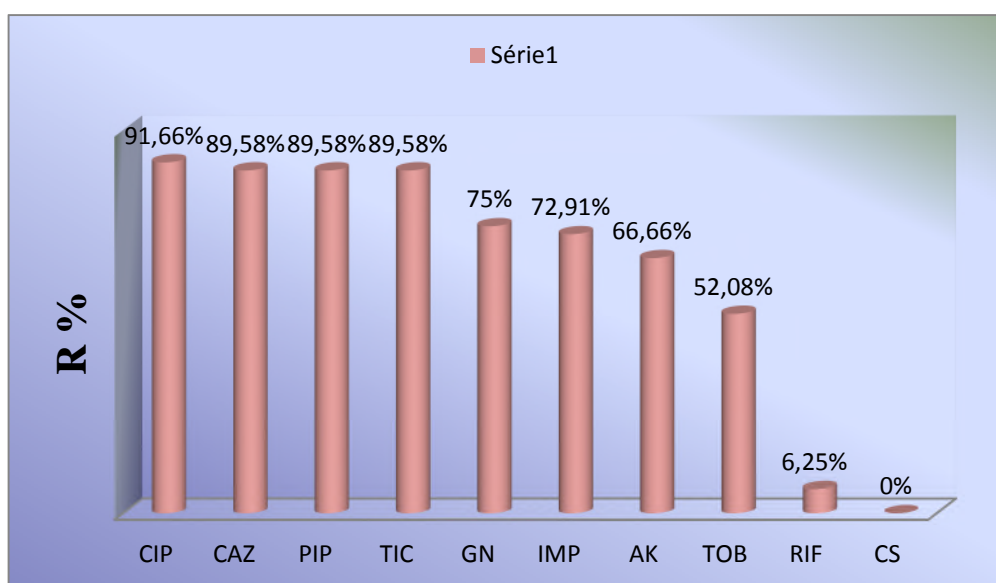


Figure 4 : Taux de résistance des souches d'*A. baumannii* aux différents antibiotiques testés.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm), les profils de résistance des souches ainsi que les résultats de tous les tests que nous avons réalisés dans cette étude sont donnés dans le tableau N°II

Tableau N°II: Diamètres des zones d'inhibition (mm) ainsi que les profils de résistance des souches aux antibiotiques

| Code | IMP | TC | TOB | PI | AK | GN | CAZ | RD | CIP | CS | DD-TEST | TEST DE HODGE | TEST A L'EDTA | Type de carbapénémase |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------------|---------------|-----------------------|
| 293 | 12 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 24 (S) | 6 (R) | 15(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 215 | 12 (R) | 6 (R) | 22 (S) | 6 (R) | 25(S) | 22(S) | 6 (R) | 22 (S) | 6 (R) | 17(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 218 | 12 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 23(S) | 6 (R) | 18(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 225 | 6 (R) | 6 (R) | 19(S) | 8 (R) | 9 (R) | 6(R) | 6 (R) | 22 (S) | 6 (R) | 18(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 216 | 13 (R) | 6(R) | 6 (R) | 7(R) | 6(R) | 6 (R) | 6 (R) | 16 (I) | 11 (R) | 16(R) | - | + | - | OXA-23 |
| 269 | 12 (R) | 6(R) | 14 (R) | 7 (R) | 14(R) | 16(S) | 6 (R) | 22 (S) | 6 (R) | 16(S) | - | + | + | NDM-1 |
| 267 | 12 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 6 (R) | 21 (S) | 6 (R) | 15(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 229 | 6(R) | 6 (R) | 19(S) | 6(R) | 11(R) | 6(R) | 6 (R) | 21(S) | 6 (R) | 15(R) | - | + | - | OXA-23 |
| 233 | 13(R) | 6 (R) | 25 (S) | 6 (R) | 27(S) | 17(S) | 9 (R) | 24 (S) | 6(R) | 20(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 230 | 7(R) | 6 (R) | 14 (R) | 6 (R) | 8 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 6(R) | 16(S) | - | + | - | OXA-24 |
| 228 | 6 (R) | 6 (R) | 18 (S) | 6 (R) | 23 (S) | 6 (R) | 6 (R) | 23 (R) | 11 (R) | 15 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 242 | 10 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 20 (S) | 6 (R) | 15 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 290 | 12 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 6 (R) | 6 (R) | 20 (S) | 11 (R) | 16 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 274 | 11 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 18 (I) | 11 (R) | 15 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 221 | 12 (R) | 6 (R) | 10 (R) | 6 (R) | 13 (R) | 13(R) | 26 (S) | 14 (I) | 13 (R) | 21 (S) | - | + | - | OXA-23 OXA-24 |
| 227 | 11 (R) | 11 (R) | 21 (S) | 14(I) | 7 (R) | 7 (R) | 6 (R) | 18 (I) | 14 (R) | 17 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 282 | 13 (R) | 6(R) | 6(R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 19 (S) | 6 (R) | 17 (S) | - | + | - | OXA-23 OXA-24 |
| 226 | 11 (R) | 16 (I) | 6 (R) | 6 (R) | 9 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 19 (S) | 14 (R) | 16 (S) | - | + | - | OXA-24 |
| 285 | 9 (R) | 6(R) | 6 (R) | 10(R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 18 (I) | 6 (R) | 18 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 287 | 12 (R) | 6 (R) | 28 (S) | 6 (R) | 27 (S) | 20(S) | 6 (R) | 18 (I) | 6(R) | 19(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 281 | 15 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 20 (S) | 6 (R) | 15 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 291 | 11 (R) | 6(R) | 6(R) | 10(R) | 6(R) | 6(R) | 6(R) | 18(I) | 6(R) | 18(S) | - | + | - | OXA-23 |
| 277 | 11(R) | 6 (R) | 6 (R) | 8 (R) | 12 (R) | 14(R) | 20 (I) | 14 (I) | 6 (R) | 19 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 240 | 9 (R) | 6(R) | 16 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 19(I) | 6(R) | 15(S) | - | + | - | OXA-24 |
| 263 | 13 (R) | 6(R) | 28(S) | 6(R) | 30 (S) | 19 (S) | 6 (R) | 21 (S) | 6 (R) | 20 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 231 | 13(R) | 6 (R) | 26 (S) | 6 (R) | 7(R) | 6 (R) | 6 (R) | 25 (S) | 10 (R) | 21 (S) | - | + | - | OXA-24 |
| 223 | 13 (R) | 6(R) | 21(S) | 6(R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 20(S) | 14 (R) | 17 (S) | - | + | - | OXA-24 |
| 271 | 13 (R) | 6 (R) | 19 (S) | 13 (I) | 6 (R) | 6 (R) | 24 (S) | 18 (I) | 6 (R) | 17 (S) | - | + | - | OXA-24 |
| 224 | 9 (R) | 6(R) | 19 (S) | 6 (R) | 8 (R) | 21(S) | 6 (R) | 21(S) | 14 (R) | 16 (S) | - | + | - | OXA-24 |
| 235 | 9(R) | 6 (R) | 24(S) | 6 (R) | 13 (I) | 17 (S) | 8 (R) | 19 (S) | 10 (R) | 17 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 244 | 13 (R) | 6(I) | 14(R) | 8 (R) | 26 (S) | 14(R) | 6(R) | 6(R) | 6 (R) | 17 (S) | - | + | + | NDM-1 |
| 268 | 9 (R) | 16 (I) | 6 (R) | 6 (R) | 23 (S) | 6 (R) | 6 (R) | 18 (I) | 16 (R) | 18 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 286 | 9 (R) | 6(R) | 20(S) | 6 (R) | 23 (S) | 18(S) | 6 (R) | 26 (S) | 6 (R) | 16 (S) | - | + | - | OXA-23 |

Résultats

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|---------|---------|---------|---------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---|---|---|--------|
| 284 | 12 (R) | 6 (R) | 11 (R) | 6 (R) | 25(S) | 11(R) | 6 (R) | 20 (S) | 6 (R) | 16 (S) | - | + | + | NDM-1 |
| 273 | 8(R) | 6 (R) | 19(S) | 6(R) | 20(S) | 19(S) | 6(R) | 20 (S) | 6 (R) | 19 (S) | - | + | - | OXA-23 |
| 241 | S | 6(R) | 19 (S) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 20(S) | 6(R) | 16(S) | + | - | - | ND |
| 266 | S | 13(I) | 21 (S) | 16(I) | 9(R) | 10(R) | 6 (R) | 19(S) | 7(R) | 17 (S) | + | - | - | ND |
| 251 | S | 6 (R) | 21(S) | 14 (R) | 10(R) | 6(R) | 24(S) | 19(S) | 25(S) | 20 (S) | + | - | - | ND |
| 272 | S | 6 (R) | 6(R) | 6(R) | 25 (S) | 8 (R) | 6 (R) | 21 (R) | 8 (R) | 20 (S) | + | - | - | ND |
| 208 | S | 6 (R) | 6 (R) | 6(R) | 25 (S) | 8 (R) | 6(R) | 20 (S) | 13 (R) | 22 (S) | + | - | - | ND |
| 238 | S | 6 (R) | 22 (S) | 9 (R) | 10 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 20 (S) | 11 (R) | 18 (S) | + | - | - | ND |
| 252 | S | 6 (R) | 28 (S) | 6 (R) | 11 (R) | 29 (S) | 6 (R) | 21(S) | 6 (R) | 16 (S) | + | - | - | ND |
| 207 | S | 18 (I) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 14 (R) | 20 (S) | 17 (R) | 15 (S) | + | - | - | ND |
| 255 | S | 6 (R) | 6(R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 18 (I) | 6 (R) | 15 (S) | + | - | - | ND |
| 206 | S | 6 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 8 (R) | 6 (R) | 6 (R) | 21 (S) | 24 (S) | 19 (S) | + | - | - | ND |
| 248 | S | S | S | S | 24 (S) | S | 24 (S) | 12 (R) | 27 (S) | 19 (S) | + | - | - | ND |
| 265 | S | 20 (S) | 18 (S) | 16 (I) | 20 (S) | 20 (S) | 7 (R) | 17 (I) | 25 (S) | 18 (S) | + | - | - | ND |
| 261 | S | 18 (I) | 14 (R) | 18 (R) | 19 (S) | 22(S) | 6 (R) | 16 (I) | 27 (S) | 17 (S) | + | - | - | ND |

R : résistant, **S** : sensible, **I** : intermédiaire , **ND** : non déterminé

3. DD-test

Une image de synergie a été observée chez 13 souches, indiquant ainsi la production probable d'une BLSE (tableau III, et figure 5)

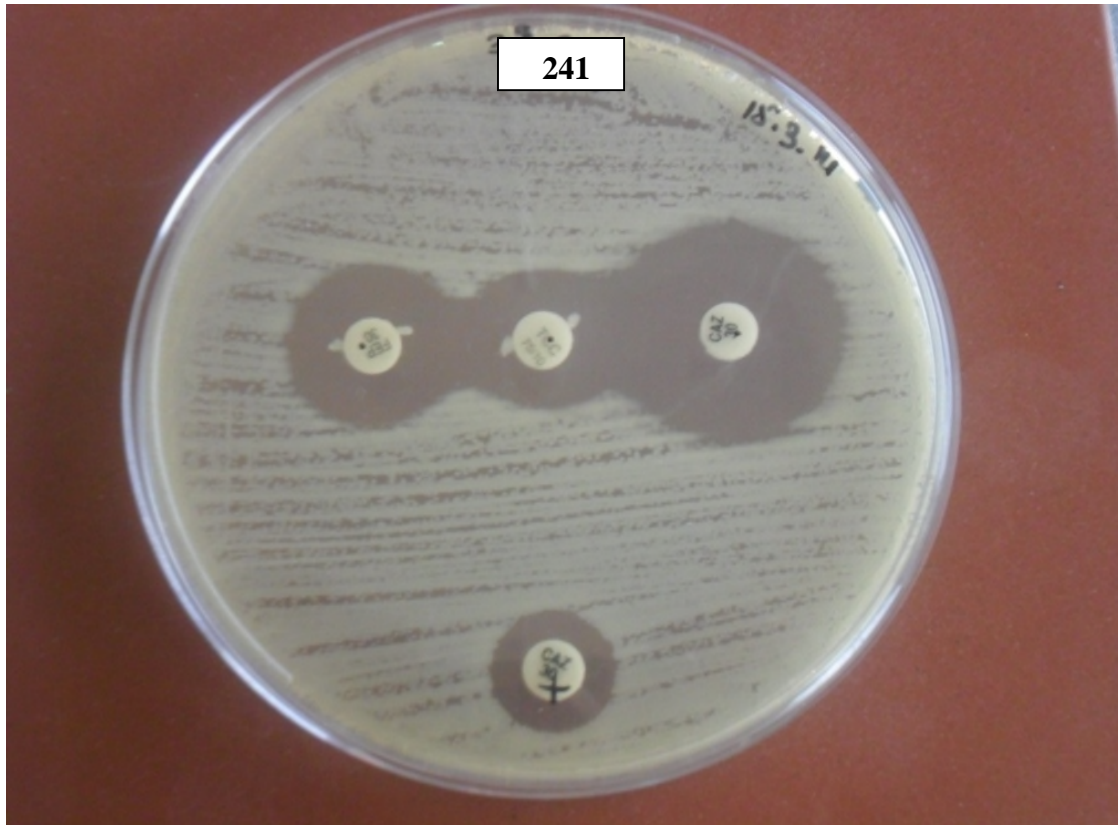


Figure 5: Image d'un DD-test positif sur gélose Mueller Hinton plus cloxacilline pour la souche 241

4. Détection de la production de carbapénémases

Le test de Hodge a été positif pour les 35 souches résistantes à l'imipénème. Et Le test à l'EDTA est positif pour 3 souches, indiquant la production probable d'une M β L (tableau III , figure 6 et 7)

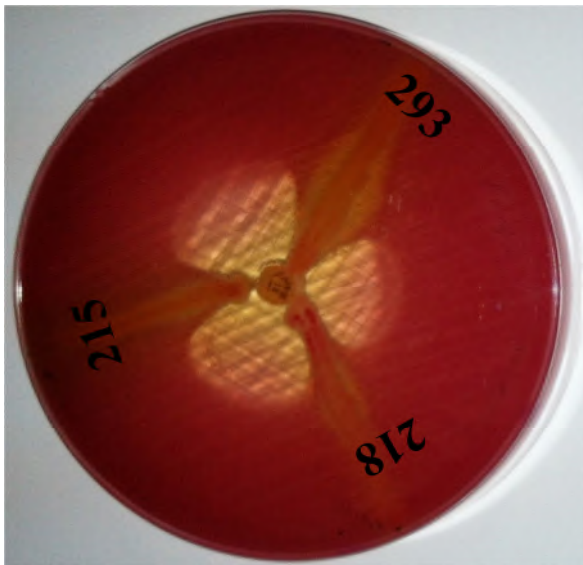


Figure 6 : Test de Hodge pour les souches 215, 218 et 293

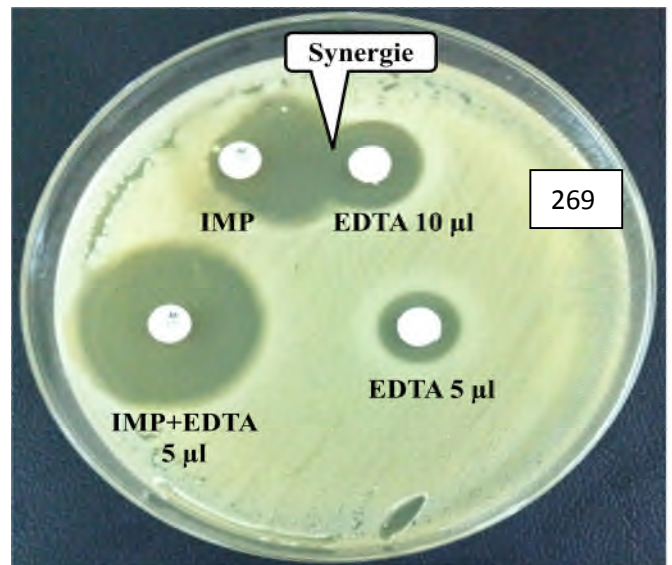


Figure 7 : image de synergie IMP-EDTA pour la souche 269

5. Détection des carbapénèmases par PCR

Les résultats de la PCR ont révélé que 21 souches (60%) possèdent l'OXA-23 , 7 souches (20%) possèdent le gène OXA-24, 3souches (8.57%) produisent une MBL de type NDM-1 , et que 2 souches (5.71%) possèdent simultanément les deux gènes OXA-23 et OXA-24 (tableau III).

Longtemps considéré comme un micro-organisme opportuniste, *A. baumannii* est devenu ces dernières années une cause majeure d'infections nosocomiales. (Giamarellou et al.,2008) , particulièrement retrouvé dans les services de soins intensifs, les services de chirurgie « lourde », et les unités de grands brûlés (Kempf et Rolain,2012 ; Evillard ,2012). Dans notre études les souches d'*A.baumannii* ont été essentiellement isolées en réanimation (**64%**) et en chirurgie (**27%**).Ces résultats sont concordant avec de nombreuses études rapportant la prédominance d' *A. baumannii* dans les services de réanimation, tel que l'étude rapporté au Maroc par Elouennass en 2003, avec un taux de **67 %** (Elouennass et al ., 2003) .

La persistance des infections à *A.baumannii* est liée à un ensemble de facteurs, parmi lesquels figure principalement : la ventilation assistée, l'antibiothérapie à large spectre, le séjour prolongé, le cathétérisme artériel et l'immunodépression (Joly-Guillou et al., 2006).

Dans notre étude, le taux d'isolement le plus élevé d'*A.baumannii* est observé pour les prélèvements respiratoires avec **35.40%**, nos résultats sont proches de ceux retrouvés par Benredouane et al.,2012 avec un taux de **31%** . (Benredouane et al.,2012)

Jusqu'au années 1970, les isolats cliniques d'*Acinetobacter* spp, étaient sensibles à la plupart des groupes d'antibiotiques disponibles y compris les β -lactamines .A présent l'espèce *A.baumannii* a développé une résistance à la quasi-totalité de ces antibiotiques (Opazo et al.,2012).

Le taux de résistance aux différentes classes d'antibiotiques est variable. Il est de **89,58%**pour la ceftazidime, pipéraciline et ticacilline. Nos résultats sont proche de ceux retrouvés au niveau de l'EHU de Sétif par Bachiri et à Alger au niveau de l'hôpital de Ain naadja par Kara et Milane (Bachiri,2013 ; Kara et Milane,2013) (mémoire fin de cycle)

Dans notre étude , la résistance aux aminosides est respectivement de**75%**, **66.66%**, **52.08%**, pour la gentamicine, amikacine et tobramycine, nos résultats se rapprochent de ceux retrouvés par Bakour et al.,2012 . La résistance aux aminosides est généralement due à la production d'enzymes modificatrices, ainsi que la méthylation de l'ARNr16S par *armA*.

Dans notre études **91.66%** des isolats sont résistant aux fluoroquinolones et cela est peut être due à des mutations de la cible (*gyrA* et *parC*). Bakour et al ont rapporté un taux de résistance à la ciprofloxacine de **92.3 %**.

Dans notre étude 13 souches (**27.03 %**), produisent probablement des BLSE. Nos résultats sont plus élevés que ceux retrouvés par Bachiri au niveau du CHU de Sétif (Bachiri,2013).

Cependant, nos résultats sont proches de ceux retrouvés à Alger par Kara et Milane au niveau de l'hôpital de Ain Naadja (Kara et Milane,2013).

L'efficacité des carbapénèmes est de plus en plus compromise en raison de l'émergence dans le monde des isolats résistants. La résistance à l'imipénème est variable selon les auteurs allant de **3.1** à **60%** (Chbani et al., 2004 ; Ling et al.,2005 ; Picazo et al., 2006). Notre étude objective une résistance de **73 %**.

Dans notre étude, 21 souches (**68%**) sont positives pour le gène *bla_{oxa-23}*. Ce gène s'est propagé à l'échelle nationale, il a été retrouvé à Tlemcen, Oran , Sidi bel Abbes, Tizi-Ouzou , Sétif , Alger et Annaba (bakour et al.,2012 ; Touati et al.,2012 ; Mesli et al., 2013).

Concernant le gène *bla_{OXA-24}* ,6 souches (**23%**) sont positives pour ce gène. Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés par Bakour et al au niveau du CHU de Sétif en 2012 (Bakour et al 2012). *bla_{OXA24}* a été aussi retrouvé à Tlemcen, Oran, Sidi bel abbes, Sétif, et Alger (Mesli et al.,2013). Dans notre étude, 2 souches (**5.17%**) produisent simultanément les deux gènes *bla_{OXA-23}* et *bla_{OXA-24}*. La co-production du gène *bla_{OXA-23}* avec d'autres gènes oxacillinases a été rapportée : *bla_{OXA-24}* (Mesli et al., 2013) , *bla_{OXA-72}* (Bakour et al., 2012) et *bla_{OXA-58}* (Touati et al., 2012).

La résistance à l'imipénème par production de Metallo-β-lactamases a d'abord été détectée par le test à l'EDTA. Après amplification génétique , 3 (**8.57 %**) souches productrice de NDM-1 ont été détectées. Seulement quatre articles publiés sur pubmed ont rapporté la production de NDM-1 chez des souches d'*A. baumannii* isolées en Algérie. Nous remarquons que nos résultats se rapproche de ceux obtenu à Oran par Mesli en 2013 (Mesli et al.,2013) .Jusqu'en 2013, aucune MβL n'a été détecté au niveau de Setif, Tizi-ouzou, Tlemcen, Sidi Bel Abbes, Annaba. (bakour et al.,2012 ; Mesli et al., 2013 ; Touati et al.,2012) .En dépit d'être moins souvent identifiée chez *A. baumannii* que les oxacillinases , NDM- 1 se propage actuellement dans le monde entier et pourrait être rapportée avec une fréquence élevée comme un médiateur de résistance à la classe des carbapénèmes . Il est donc essentiel d'étudier la présence de ce gène dans les isolats d'*A. baumannii* multirésistantes dans le monde entier (Mesli et al.,2013) .

La colistine reste un antibiotique très actif sur les souches d'*A.baumannii*, ce qui est confirmé par nos résultats. Cependant, des isolats cliniques résistants à la colistine ont déjà été

rapportés dans d'autres pays. L'apparition de plus en plus de résistances hétérogènes pour cette classe d'antibiotiques est due à l'augmentation de l'usage de cette molécule en monothérapie pour le traitement des infections causées par les souches multirésistantes d'*A. baumannii* (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010 ; Al-Sweihet *al.*, 2012).

Afin de maintenir l'efficacité de la colistine, certaines études encouragent l'utilisation de la colistine en association avec d'autres antibiotiques tel que la rifampicine (Frasca *et al.*, 2008). Cependant des résistances à la rifampicine ont été rapportées comme celles retrouvées dans notre étude avec un taux de **6.25%**, d'où la nécessité urgente de développer et d'évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques comme la combinaison de la colistine avec la tigécycline (Giamerlou *et al.*, 2008).

Enfin, cette étude rapporte une prévalence élevée des souches d'*A.baumannii* multirésistantes dans l'EHU d'Oran. Les résultats obtenus par la présente étude doivent être complétés par une série d'autres tests à savoir :

- Une MLST ou PFGE pour étudier l'épidémiologie des souches
- L'identification et la caractérisation de l'environnement génétique (séquences d'insertions, intégrons et transposons...) afin de déterminer les éléments qui permettent la mobilité des gènes
- Etude des supports génétiques (plasmidiques ou chromosomiques) responsables d'une éventuelle dissémination de la résistance aux antibiotiques chez *A.baumannii*

Afin de limiter, au moins, l'émergence de souches multirésistantes, on insiste plus sur la mise en place d'un système de contrôle de l'environnement de l'hôpital, l'application stricte des mesures d'hygiène et l'usage contrôlé de l'antibiothérapie associée .

A

Al-Sweih NA, Al-Hubail M et Rotimi VO. (2012). Three distinct clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with high diversity of carbapenemases isolated from patients in two hospitals in Kuwait. *J Infect Public Health.* **5**, 102-108.

Amazian k, Fendri C, Missoum MF, Bouzouaia N, Rahal K, Savey A, Saadatian M et Fabry J. 2006. Multicenter pilot survey of resistant bacteria in the Mediterranean area. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **25** suppl 3 :340-3.

Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992). *Bactériologie clinique*. Edition. Elipses, pp. 126-128.

B

Bakour S, Kempf M, Touati A, Ait AA, Haouchine D, Sahli F et al. (2012). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J Med Microbiol.* **61**,1341-3.

Bakour S, Touati A, Sahli F, Ait Ameer A, Haouchine D, et Rolain J-M. (2012). Antibiotic resistance determinants of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Algeria. *Diagnostic Microbiology and infectious disease.* **76**, 529-531.

Ben Haj AK et Khedher M. (2010). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Med Maladies Infect.* **40**, 126–128

Benredouane M, Belloui A et Amhis W. 2012. profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Med Maladies Infect.* **40**, 126-128.

Bonnin RA, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. (2013). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clone, France. *Emerg Infect Dis.* **19**, 822-3.

Bou G et Martinez-Beltran J. (2000). Cloning nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* **44**, 428-32.

C

Chbani F, Zoughaghi L, Taouragt K, Aarab H, et Benaouda A. (2004).

Acinetobacterbaumannii : épidémiologie et résistance aux antibiotiques .Part.14 suppl 2 :S23-24

Comite De L'antibiogramme De La Societe Francaise De Microbiologie. Norme n°2 : Méthode de la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide pour les bactéries aérobies à croissance rapide. (Version 2, 1995).

Comite De L'antibiogramme De La Societe Francaise De Microbiologie : Recommandations 2013.

D

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

Decousser JW, Jansen C, Nordmann P, Emirian A, Bonnin RA, Amusil L, Merle JC et Poirel L.(2013). Outbreak of NDM-1 producing *Acinetobacter baumannii* in France, January 201 to May 2013.Emerging Antibiotic Resistance.18 suppl 3:1-4

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale: Techniques usuelles .Edition. Masson. 344-345.

Delbos V.2012. manifestation clinique et traitement des infections à *Acinetobacter baumannii*. Revue Francophone des laboratoires.441, 59-65.

Drissi M, Poirel L, Mugnier PD, Baba Ahmed Z et Nordmann P. (2010). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. Eur J Clin Microbiol. 29, 1457–145.

E

Elouennass M, Bajou T, Lemnouer AH, Foissaud V, Hervé V et Baaj AJ. (2003). *Acinetobacter baumannii*: étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. *Med Maladies Infect.* **7**, 361-364.

Euzeby JP (2010). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse . Le texte original est librement disponible sur : <<http://www.bacteriologie.net/generale/resistancenaturelle.html>> (consulté le 23.04.2014).

Evillard M, (2012). Gestion des épidémies à *Acinetobacter baumannii*. *Revue francophone des laboratoires.* **34**. 53-57.

Eveillard M et Joly-Guillou M-L. (2012). Infection émergente à *Acinetobacter baumannii* et circonstances favorisant leur survenue. *Pathologie biologique.* **60**, 314-319.

F

Farca D, Dahyot-Fizelier C et Mimos O. (2008). La colistine en réanimation. *Journal homepage.* **17**, 251-258.

G

Gordon NC et Wareham DW. (2010). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Ag.* **35** suppl 3:219–226.

Giamarellou H, Antoniadou A et Kanellakopoulou K. (2008). *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health?. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **32**, 106–119.

Gillespie SH et Hawkey PM. (2006). *Principles and practice of clinical bacteriology* second edition. Edition: John Wiley et Sons, LTD. England. 604p.

H

Hidri N. (2012). Identification d'*Acinetobacter spp* au laboratoire . *Revue francophone des laboratoires.* **441**. P.37-41.

Howard A , O'Donoghue M, Feeney A et Sleator RD.(2012).*Acinetobacter baumannii* an emerging opportunistic pathogen.virulence.**3** Suppl 3:243-250.

J

Joly-Guillou ML et Bergogne-Bérézin E. (2006). Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : Leur importance actuelle. *Antibiotiques*. **8**,94-99.

Jeong SH, Bae IK , Park KO, An YJ, Sohn SG , Jang SJ , Sung KH , Yang KS , Lee K, Young D et Lee SH. (2006). Outbreaks of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing Carbapenemases in Korea. *J Microbiol*. **44** suppl : 423-431

K

Kempf M, Bakour S, Flaudrops C, Berrazeg M, Brunel J-B, Drissi M, Mesli E, Touati A et Rolain JM.(2012) Rapid Detection of Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry .*Polone*,**7** suppl 2 : e.31676.

Kempf M et Rolain J-M. (2012). Egemergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumanii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *International journal of antimicrobial Agents*. **39**, 105-114.

L

Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD et Chong Y. (2010). Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Meth*. **83**, 149–152.

Ling TK , Ying CM, Lee CC, et Liu ZK.(2005). Comparaison of antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Shanghai and Hong Kong. *Med Princ Pract*.**14** suppl 5: S338-341

M

Maltezou HC.(2008). Metallo- β -lactamases in Gram-negative bacteria:introducing the era of pan-resistance? International Journal of Antimicrobial Agents.**33** suppl 405.e1-405.e7.

Mansour W, Bouallegue O, Dahmen S, Boujaafar N. (2008). Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux b-lactamines chez des souches de *Acinetobacter baumannii* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). Pathol Biol. **56**, 116–120.

Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha SN, Rolain JM. (2013). Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo-b-lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. IJID. p5.

N

Naija W, Chemchikh H , Farhat I, Bouallegue O, Toumi M, M'barek B, Bensalma A, Chelbi S, Chaouch A et Said R.(2009). Rifampicine-colisistine intraveineuse pour le traitement des infections à *Acinetobacter baumannii* multirésistant. Revue Tunisiene d'Infectiologie.**2**,15-18.

Nevgun O, Ergani A, Naas T, Ogunç D, Gultekin M, Colak D et Nordmann P. (2009). Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-58 in Turkey. The Open Antimicrobial Agent Journal.**1**, 1-8.

Nordmann P. (2004). *Acinetobacter baumannii*, le pathogène nosocomial par excellence. Pathologie Biologie . **52**, 301–303.

Nordmann P, Carrer A.(2010). Les carbapénèmases des entérobactéries.Elsevier Masson.**17**,154-162.

O

Olaitan AO, Berrazeg M, Fagade OE, Adelowo OO, Ali JA et Rolain JM (2013). Emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase, Nigeria.International Journal of Infectious Diseases. **17**, 469-470.

Opazo A, Dominguez M, Bello H , Amges S et Gonzalez-Rocha G.(2012).OXA-type carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* in south America .J Infect Dev Ctries.**6**.suppl 4: S311-316

O'Shea MK. (2012). Acinetobacter in modern warfare. *Int J Antimicrob Ag.* **39** suppl 5: 363–375.

P

Peleg AY, Seifert H et Paterson DL. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin Microbiol.* **21** suppl 3:538–582.

Picazzo JJ, Betriu C , Rodriguez-Avial I, Culebras E, Gomez M, et Lopez F .(2006). Antimicrobial resistance surveillance : Vira study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* **24** suppl 10 : S617-28 .

Poirel L et Nordmann P.(2006). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* : mécanisme and epidemiology. *Clinical Microbiology and infectious diseases.* **12**,826-836.

Poirel L et Nordmann P. (2006). Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. Edition Masson, Paris. 100 -107

Poirel L, Nordmann P. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms of Resistance, Multiple β -lactamases. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*. Eds, Bergogne –Bérézin et al., Springer Science + Business Media. 129- 143.

S

Siegrist HS. (2000). *Acinetobacter spp* : Infection nosocomiales, épidémiologie et résistance aux antibiotiques. *Swiss-Noso*, (Suisse).

T

Touati M, Diene SM, Racherache A, Dekhil M et Djahoudi A. (2012). Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents* . **40**, 84-93.

Towner K. (2006). The genus *Acinetobacter*. *Prokaryotes*, Chapter: **3** Suppl 6: 746–758.

Y

Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM et Chong Y. (2002). Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo β -Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol. **40**, 3798–3801.

Z

Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. (2013). Global evolution of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages . International Journal of Antimicrobial Agent.**41**,11-19.

Zarilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, et Tsakris A. (2009). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: The molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. J Inf Dev Ctries. **3**, 335-341.

Tableau N°III : Caractéristiques des souches d'*A. baumannii* recueillies.

| Code | Date | Sexe | Service | Prélèvement |
|-------------|-------------|-------------|------------------|-----------------------|
| 206 | 04/01/2012 | F | Chirurgie | pus |
| 207 | 10/01/2012 | M | Réanimation | Urine |
| 208 | 18/01/2012 | F | Réanimation | Liquide pleural |
| 215 | 27/02/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 216 | 27/02/2012 | M | Réanimation | Cathéter |
| 218 | 28/02/2012 | M | Chirurgie | Sang |
| 221 | 10/03/2012 | F | Réanimation | Bronchique |
| 227 | 12/03/2012 | M | Réanimation | Ecouvillonnage rectal |
| 224 | 27/03/2012 | M | Chirurgie | Liquide pleural |
| 223 | 28/03/2012 | M | Chirurgie | pus |
| 225 | 30/03/2012 | M | Medecine interne | Sang |
| 228 | 02/04/2012 | F | Réanimation | Ecouvillonnage rectal |
| 226 | 02/04/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 231 | 10/04/2012 | F | Chirurgie | pus |
| 229 | 12/04/2012 | M | Chirurgie | Sang |
| 233 | 18/04/2012 | M | Rééducation | Urine |
| 235 | 21/04/2012 | M | Réanimation | KT central |
| 238 | 22/04/2012 | M | Chirurgie | Pus |
| 241 | 24/04/2012 | M | Chirurgie | Pus |
| 248 | 25/04/2012 | F | Chirurgie | Pus |
| 242 | 28/04/2012 | M | Chirurgie | Pus |
| 240 | 03/05/2012 | F | Réanimation | Bronchique |
| 244 | 11/05/2012 | F | Réanimation | Bronchique |
| 251 | 06/08/2012 | F | Réanimation | Trachéal |
| 252 | 07/08/2012 | M | Réanimation | KT. Central |
| 255 | Aout 2012 | M | Réanimation | Trachéal |

| | | | | |
|-----|------------|---|---------------------------|--------------------------|
| 261 | 05/09/2012 | F | Réanimation | Urine |
| 263 | 18/09/2012 | F | Réanimation | Trachéal |
| 272 | 5/10/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 265 | 7/10/2012 | F | Réanimation | Trachéal |
| 267 | 8/10/2012 | F | Réanimation | Trachéal |
| 268 | 8/10/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 266 | 11/10/2012 | M | Medecine interne | Urine |
| 269 | 14/10/2012 | M | Chirurgie | Pus |
| 271 | 15/10/2012 | F | Réanimation | Sang |
| 273 | 23/10/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 274 | 29/10/2012 | M | Urgences Chirurgicales | Ecouvillonnage rectal |
| 277 | 07/11/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 281 | 20/11/2012 | F | Réanimation | trachéal |
| 284 | 03/12/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 282 | 11/12/2012 | F | Réanimation | Cathéter |
| 285 | 16/12/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 286 | 16/12/2012 | F | Maxillo-faciale | pus |
| 287 | 18/12/2012 | F | Gynécologie | Pus |
| 290 | 23/12/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 230 | 26/12/2012 | M | Chirurgie | Pus |
| 293 | 28/12/2012 | M | Réanimation | Trachéal |
| 291 | 31/12/2012 | M | Réanimation | Trachéal |

F : sexe féminin , **M** : sexe masculin, **kt** : cathéter

Annexe II

Composition des milieux de cultures (En g /l)

Composition du Milieu Muller Hinton (HIMEDIA)

| | |
|----------------------------|-----------|
| Infusion de viande de bœuf | 300 g |
| Hydrolysate de caséine | 17.5 g |
| Amidon | 1.5 g |
| Agar | 17 g |
| PH | 7.3 ± 0.1 |

Composition du Milieu Mac Conkey Agar W/CV, NACL and 0,5 Bile Salts (HIMEDIA)

| | |
|---------------------------------|--------------|
| Peptics digest of animal tissue | 20,00 |
| Lactose | 10.00 |
| Sodium chloride | 5.00 |
| Bile salts | 1.50 |
| Naturel red | 0.05 |
| Crystal Violet | 0.001 |
| Agar | 15.00 |
| Final PH at 25°C | 7.2 ± 0.2 |

Résumé :

Notre étude a pour objectif la caractérisation phénotypique et génotypique des mécanismes de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques. Les phénotypes de résistance ont été déterminés sur la base des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques et aux inhibiteurs (Acide clavulanique, Cloxacilline, et EDTA), les gènes de résistances ont été déterminés par PCR.

Au cours de notre étude, 48 souches d'*A.baumannii*, isolées au niveau de l'EHU d'Oran sont résistantes au β -lactamines, parmi elles 35 sont résistantes à l'imipénème, Concernant les autres familles d'antibiotiques, 44 souches résistent à la ciprofloxacine, 43 à la ceftazidime, 25 souches pour la tobramicine, et 2 souches pour la rifampicine. Toutes les souches sont sensibles à la colistine. Les gènes de résistance détectés sont : l'OXA-23 qui a été positive pour 21 souches, l'OXA-24 positive pour 6 souches, 2 souches possédant les deux gènes OXA-23 et OXA-24 et enfin 3 souches possédant le gène NDM-1

L'émergence des souches d'*Acinetobacter baumannii* multirésistantes représente un sérieux problème thérapeutique, d'où la nécessité de l'application rigoureuse des règles d'hygiène et l'usage rationnel des antibiotiques.

Mot clé : Etablissement Hospitalier universitaire d'Oran, *Acinetobacter baumannii*, antibiotiques, phénotypes de résistance, β -lactamases, gènes de résistance.

Abstract:

Our study aims to phenotypic and genotypic characterization of mechanisms of resistance of *Acinetobacter baumannii* strains to antibiotics. Resistance phenotypes were determined on the basis of the results tested for sensitivity to antibiotics and inhibitors (clavulanic acid, Cloxacillin, and EDTA), the resistance genes were determined by PCR. In our study, 48 strains of *A. baumannii* were isolated at the EHU Oran are resistant to β -lactams, among them 35 were resistant to imipenem. Concerning other families of antibiotic, 44 strains were resistant to ciprofloxacin, ceftazidime 43 to 25 strains for tobramycin, and 2 strains to rifampicin. All strains were sensitive to colistin. Resistance genes were detected: the OXA-23 was positive for 21 strains, OXA-24 positive for 6 strains, 2 strains with both genes *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-24} and finally 3 strains possessing the gene NDM-1. The emergence of multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* is a serious therapeutic problem, hence the need for the strict application of the rules of hygiene and rational use of antibiotics.

Keyword: Establishing Hospital University of Oran, *Acinetobacter baumannii*, antibiotic resistance phenotypes, β -lactamase resistance genes