

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Microbiologie appliquée
Option : Microbiologie appliquée au Secteur Biomédical
et Vétérinaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Caractérisation phénotypique de la résistance
aux β -lactamines des souches d'*Acinetobacter*
baumannii isolées à l'Etablissement Hospitalier
Universitaire d'Oran

Présenté par :

M^{elle} Bentara Hanane et M^{elle} Abdelli Fouzia

Soutenu le : **15 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme Belhadi k.	MAA	Président
Mme Gharout A.	MAA	Encadreur
Mme Tafoukt R.	MAB	Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015



REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous remercions dieu le tout puissant qui nous a donné le courage et la patience afin de parvenir à finir ce travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice **madame Gharout** pour nous avoir encadrés et pour sa disponibilité tout au long de notre travail.

Nous remercions les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous adressons de très vifs remerciements à Monsieur **Bakour Sofiane** et Melle **Djenadi Katia** pour leurs conseils précieux ainsi que leurs orientations

Nos remerciements vont également au service de microbiologie de l'EHU d'Oran de nous avoir fourni les souches bactériennes

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce travail :

Aux deux chères personnes, ma maman et mon papa tous les mots du monde ne pourront pas décrire ma reconnaissance ; merci de m'avoir soutenu ; encouragé et aidé, j'espère être toujours à la hauteur de vos espérances, car vous méritez tout ce qu'il y a de mieux en ce monde.

À mes deux sœurs : Samira et Alia pour leurs conseils, aide et de les avoir trouvé toujours à mes côtés, ainsi que leurs maris :

Moussa et Samy.

À mon frère Samir et sa femme Amel.

À mon frère Didil qui m'a été d'une aide constante et entouré de ses précieux conseils et encouragements, ainsi que sa future femme Nassima.

À la mémoire de mon cousin Bilal, que dieu l'accueille dans son vaste paradis.

À tous mes cousins et cousines surtout Rbifa.

À tous mes amis merci pour votre fidélité et votre joie de vivre : Zineb, Hanane, Fahima, Kahina et Meriem.

Et toute la promotion MSBV à qui je souhaite un bon parcours professionnel.

Hanane



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*À mes très chers parents qui m'ont toujours encouragé et sacrifié pour
moi*

À mon frère et mes sœurs ainsi qu'à leurs petites familles

À mon fiancé ainsi qu'à sa famille

À tous mes oncles et tantes

À tous mes cousins et cousines

À toutes mes amies

À toute la promotion MSBV 2015

Fouzia



Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....01

Partie I : Matériel et méthodes

1. Souches bactériennes06
2. Etude de la sensibilité des souches d'*A. baumannii* aux antibiotiques.....06
3. Détection phénotypiques des β -lactamases.....07
 - 3.1 Recherche de la production de carbapénémases.....07
 - a. Test de Hodge modifié.....07
 - b. Test à l'EDTA.....07
 - c. Modified carba NP Test09
 - d. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par Etest.....10
 - 3.2 Recherche de la production de β -lactamases à Spectre Etendu (BLSE).....11

Partie II : Résultats

- I. Recueil des Souches bactériennes.....12
 - I.1. Répartition des souches selon les services.....12
 - I.2. Répartition des souches selon le type de prélèvement.....13
 - I.3. Identification.....13
 - a. Milieu Citrate-Simmons en tube incliné.....13
 - b. Milieu TSI (triple sugar iron)14
- II. Sensibilité des souches aux antibiotiques.....14
 - II.1. Souches résistantes à l'imipénème14
 - a. Test de Hodge modifié.....15
 - b. Recherche de métallob β -lactamases15
 - c. Modified carba NP Test.....16

d.	Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	17
II.2.	Souches sensibles à l'imipenème.....	18
II.2.	DD-Test.....	18

Partie III : Discussion et conclusion

Discussion	19
Conclusion.....	22

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AK: Amikacine

AMC : Amoxicilline Clavulanate

AmpC: Céphalosporinases

ATCC : American type culture collection

bla : bêta-lactamase

BLSE : β -lactamase à spectre élargi

CARB : Carbenicillin-hydrolyzing bêta-lactamase

Carba NP : Carbapenemase Nordmann-Poirel

CarO : Carbapenem-associated outer membrane protein

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CAZ : Céftazidime

CLOX : Cloxacilline

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CS : Colistine

CTX : Céfotaximase-Munich

DD-test : Double Disk test

E. coli : *Escheichia coli*

EDTA : Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

EHU : Etablissement Hospitalier Universitaire

GES : Guiana Extended Spectrum bêta-lactamase

GN : gentamicine

gyr A : Gène codant pour la sous- unité A de la gyrase

IMP : Imipénème

LVX : Lévofoxacine

M β L : Métallo- β -lactamase

MH : Muller Hinton

Liste des abréviations

NDM : New Delhi metallo- β -lactamase

OXA : Oxacillinase

PCR : Polymerase Chain Reaction

PER : Pseudomonas Extended Resistance

RND : Resistance Nodulation cell Division

SHV : Sulfhydryl Variable

SIM : Seoul Imipenemase

TEM : Temoniera

VEB : Vietnamese Extended Spectrum Beta-lactamase

VIM : Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase

Liste des tableaux

Tableau N°I : Informations sur les souches recueillies de l'EHU d'Oran	annexes
Tableau N°II : Résultats des profils de résistance des souches d' <i>A. baumannii</i>	annexes
Tableau N°III Résultats des phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	annexes
Tableau N°IV : Interprétation des résultats du Cabra NP test modifié	10
Tableau N°V : Répartitions des souches selon le type de prélèvement.....	12
Tableau N°VI : Diamètre des zones d'inhibition (mm) obtenues avec IMP et EDTA.....	15
Tableau N° VII : Résultats des CMI de l'imipénème.....	17
Tableau N°VIII : liste des antibiotiques testés.	annexes

Liste des figures

Figure1 : Disposition des disques (Méthode Hodge modifié)	07
Figure2 : Disposition des disques (Méthode des disques combinés).....	08
Figure 3 : Disposition des disques (EDTA-disque synergie test).....	08
Figure 4 : Détermination de la CMI par Etest	10
Figure 5 : Disposition des disques d'antibiotiques dans le DD-test	11
Figure 6 : Répartition des souches selon les services.....	12
Figure 7 : Aspect de la souche 510 sur milieu Citrate-Simmons en tube incliné.....	14
Figure 8 : Taux de resistance vis-à-vis les ntibiotiques.....	14
Figure 9 : Test de Hodge positif sur Mac Conkey.....	15
Figure 10 : Test EDTA positif (souche 423).....	16
Figure 11 : Carba NP test modifié positif.....	16
Figure 12 : Image d'une CMI sur gélose Mueller Hinton chez la souche 527.....	17
Figure 13 : Image de synergie positive sur gélose Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline chez la souche 558.....	18



Introduction

Introduction

L'histoire du genre *Acinetobacter* remonte au début du 20^{ème} siècle, en 1911, quand Beijerinck, un microbiologiste hollandais décrit un organisme nommé *Micrococcus calcoaceticus* qui été isolé du sol (Peleg *et al.*, 2008).

Longtemps considéré comme un représentant de la famille des *Neisseriaceae*, le genre *Acinetobacter* est actuellement inclus dans la famille des *Moraxellaceae*, ordre des *Pseudomonadales*, classe de *Gamma Proteobacteria*, embranchement *Proteobacteria* et domaine de *Bacteria* (Ghazawi, 2012).

Il y'a en fait 32 espèces génomiques, dont 17 Avec un nom validé. Seulement 10 espèces ont été isolées dans des échantillons humains (*A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. parvus*, *A. radioresistens*, *A. schindleri* et *A. ursingii*) (Dortet, 2006).

Les *Acinetobacter spp* sont des germes ubiquitaires retrouvés dans le sol, l'eau potable, les eaux de surface ainsi que dans divers denrées alimentaires. On estime que jusqu'à 25% de la population sont porteurs d'*Acinetobacter spp* (Siegrist, 2000).

Chez l'homme, les *Acinetobacter ssp.* font partie de la flore cutanée normale et ils sont fréquemment retrouvés dans les zones humides. Ces bactéries sont également isolées de la bouche, gorge, trachée, du nez, conjonctivite et des urines. D'une manière globale, l'espèce pathogène ou saprophyte la plus fréquemment isolée est *Acinetobacter baumannii* (Euzéby, 2010). On les isole aussi de matériels divers : cathéters, appareils de ventilation assistée, cuvettes (Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006).

A l'examen direct *A. baumannii* se présente comme un diplococcobacille à Gram négatif, aérobie stricte, non sporulée, parfois capsulée, immobile (Howard *et al.*, 2012).Oxydase négative, catalase positive, ne fermente pas le glucose mais l'oxyde, citrate positif ,gélatinase négative ,nitrate réductase négative et indole négatif (Peleg *et al.*, 2008).

L'isolement des souches d'*Acinetobacter baumannii* en milieu solide peut être obtenu après incubation à une température comprise entre 15°C et 44°C, critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces (Gordineau Gauthey *et al.*, 1988) sur des milieux conventionnels (gélose au sang, gélose trypticase soja, etc.) et sur les milieux dédiés aux bacilles à Gram négatif comme la gélose Mac Conkey ou la gélose de Drigalski (Lambert, 2007). Les colonies sont arrondies, blanches, ou de couleur crème, lisse à bords réguliers (Peleg *et al.*, 2008).

A. baumannii est un pathogène opportuniste qui peut être responsable d'infections sévères malgré sa faible virulence (Poirel et Nordmann, 2006). Elle est responsable de 5 à

Introduction

10% des infections nosocomiales dans des services accueillant des patients fragilisés, notamment les services de soins intensifs et de réanimation. On observe surtout des infections pulmonaires chez des patients sous ventilation assistée, des infections urinaires sur sonde, des infections liées aux cathéters avec risque de septicémie (**Evillard et Joly-Guillou, 2012**). Le taux de mortalité est élevé de 20 à 60% en particulier chez des patients affaiblis: traumatisme, cancer, immunodépression... (**O'Shea, 2012**).

Les β -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, et à leur faible toxicité (**Handal et Olsen, 2000**). Les β -lactamases constituent le principal mécanisme de résistance à ces molécules, en particulier chez les bacilles à Gram négatif en hydrolysant la liaison amide du cycle β -lactame (**Philippon et Arlet, 2006**).

A. baumannii est naturellement résistant à plusieurs β -lactamines du fait de l'association de différents mécanismes impliquant les β -lactamases, efflux et imperméabilité (**Bou et Martinez, 2000**). Elle produit naturellement deux types de β -lactamases, une céphalosporinase ou β -lactamase de classe C d'Ambler (également dénommée AmpC) et une oxacillinase ou β -lactamase de classe D (**Corvec et al., 2003 ; Héritier et al., 2005**). La production d'une céphalosporinase à bas niveau est à l'origine de la résistance naturelle de cette espèce aux aminopénicillines, à la céfalotine et à la céfoxitine (**Poirel et Nordmann., 2006**).

Plusieurs variantes d'enzymes AmpC ont été caractérisées chez *A. baumannii*. Elles sont appelées ADC- types (*Acinetobacter-Derived-Cephalosporinase*) (**Hujer et al., 2005**). A la différence des espèces d'entérobactéries du groupe 3 et de *Pseudomonas aeruginosa*, cette enzyme n'est pas inductible en raison de l'absence d'un régulateur transcriptionnel (**Corvec et al., 2003**). La surexpression de cette enzyme AmpC est due à l'insertion d'une séquence IS*Aba I* au niveau de ce gène *bla*_{AmpC}, le céfépime et les carbapénèmes sont stables à l'hydrolyse par ces enzymes (**Peleg et al., 2008**). Le gène codant l'enzyme AmpC est alors surexprimé et non pas déréprimé. Cette surexpression permet une élévation importante des CMI des β -lactamines appartenant au substrat de cette enzyme (**Corvec et al., 2003**).

D'autre part, la production naturelle d'une oxacillinase OXA-69/51, chez *A.baumannii* a été identifiée (**Héritier et al., 2005**). L'analyse de l'environnement génétique du gène *bla*_{OXA-69} n'a pas identifié d'éléments de type intégrons/transposons susceptibles d'expliquer

Introduction

l'acquisition de ce gène (**Héritier et al., 2005**). A noter que l'enzyme OXA-51, retrouvée chez des souches provenant de plusieurs pays d'Europe, est un variant ponctuel de OXA-69 avec 90% d'homologie (**Brown et al., 2005**).

Des modifications dans la perméabilité membranaire d'*A. baumannii* peuvent entraîner une résistance aux carbapénèmes. Ainsi, la perte de la protéine de membrane externe CarO, secondaire à l'interruption dans le gène *carO* par différentes séquences d'insertion (notamment IS*Aba825*) peut être à l'origine d'une résistance aux carbapénèmes (**Mussi et al., 2005**).

Chez *A. baumannii*, la pompe d'efflux AdeABC (RND) a été bien caractérisée. Les aminoglycosides, tétracyclines, érythromycine, chloramphénicol, triméthoprime, fluoroquinolones, β -lactamines, et aussi récemment tigécycline, se sont révélés être des substrats pour cette pompe (**Wieczorek et al., 2008**). La présence de cette pompe explique les niveaux de CMI d'emblée élevée que l'on retrouve chez cette espèce vis-à-vis de nombreux antibiotiques (**Decré, 2012**).

L'émergence mondiale rapide des souches d'*A. baumannii* résistantes à toutes les β -lactamines, y compris les carbapénèmes, illustre le potentiel de cet organisme à réagir rapidement aux changements de pression de l'environnement sélectif (**Nodmann, 2010**). Dans les années 80, différentes pénicillinases plasmidiques ont été caractérisées chez *A. baumannii*. Il s'agit principalement de l'enzyme TEM-1 puis du variant TEM-2. C'est ensuite la pénicillinase CARB-5 (classe A d'Ambler) qui a été rapportée chez *A. baumannii* qui confère un haut niveau de résistance aux amino- et carboxy- pénicillines. Très peu de pénicillinases ont été rapportées dans *A. baumannii* à l'inverse de ce qui est observé chez les entérobactéries (**Poirel et Nordmann, 2008**).

Une large gamme de BLSE a été décrite chez *A. baumannii* comprenant des enzymes de type TEM, SHV, CTX-M, GES, SCO et VEB (**Peleg et al., 2008; Gordon et Warham, 2010**). Les BLSE les plus identifiées chez *A. baumannii* sont les enzymes PER-1 et VEB-1, leur support génétique peut être chromosomique ou plasmidique (**Poirel et Nordmann, 2008**). L'enzyme PER-1 a été largement identifiée chez les souches isolées en Turquie. Depuis, plusieurs variantes ont été caractérisées ; parmi elles, PER-7 et PER-2 en Corée du Sud et en Iran (**Al-Agamy et al. 2014**). L'enzyme VEB-1 a été à l'origine d'une épidémie importante dans le Nord de la France au début des années 2000 (**Decré, 2012**). VEB-1, qui a diffusé à

Introduction

travers les hôpitaux Français (diffusion clonale) a également été récemment rapporté en Belgique et en Argentine (VEB-1) (**Begum et al., 2013**).

Il existe trois types d'enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes rapportées chez *A. baumannii*. Il s'agit, des carbapénémases de classe B d'Ambler ou (métallo- β -lactamases), des oxacillinases de classe D et les carbapénèmes de classe A comme KPC-2 (Nordmann, 2010) et GES (**Moubarek et al., 2009**). Plusieurs mutants GES- 1 ont été détectés dans *A. baumannii*, GES- 11 a été rapportée en Turquie, l'Egypte (**Moubareck et al., 2009**), Koweït (**Bogaerts et al., 2010**) et en France (**Cicek et al., 2013**), GES- 12 a été détecté en Egypte, Belgique et en France et GES- 14 a été détecté en Turquie et Kuwait et GES- 22 a été détecté en Turquie (**Al-Agamy et al., 2014**).

Les Métallo- β -lactamases (M β LS) sont moins identifiées chez *A. baumannii* que les carbapénémases de type OXA (**Peleg et al., 2008**). Les déterminants M β LS les plus décrits chez *A. baumannii* sont les dérivés de type IMP, VIM, SIM et NDM (**Decré., 2012**). Ces enzymes confèrent un niveau de résistance élevé aux carbapénèmes, avec des CMI supérieures à 256 mg/l dans la plupart des cas (**Zarrilli et al., 2013**).

L'enzyme M β L décrite récemment, NDM-1 (New-Delhi Métallo- β -Lactamase), a été détecté en 2010 chez une souche d'*A. baumannii* isolée en Inde. En outre, un autre variant NDM, dit NDM-2, a été isolé chez une souche d'*A. baumannii* en Égypte et aux Émirats arabes Unis. Les gènes *bla*_{NDM-1} et *bla*_{NDM-2} retrouvés chez une souche d'*A. baumannii* isolée en Europe sont portés par le transposon Tn125 (**Zarrilli et al., 2013 ; Olaitaan et al., 2013**) Toutefois, le gène *bla*_{NDM-1} retrouvé chez une souche d'*A. baumannii* isolée en Chine est porté par un plasmide transférable par conjugaison (**Zarrilli et al., 2013**). Des cas de production d'une NDM par *A. baumannii* ont été décrits dans plusieurs pays à travers le monde (**Rolain et al., 2013**). En Algérie ; la première M β L de type NDM-1 a été retrouvé chez une *A. baumannii* isolée dans la ville d'Oran en avril 2011 (**Mesli et al., 2013**).

Quatre sous-groupes d'oxacillinases ont été identifiées chez *A. baumannii* incluent : OXA-23, OXA-24/40, OXA-58 et OXA-143 (**Senkyrikova et al., 2013**). La première oxacillinase capables d'hydrolyser l'imipénème fut l'OXA-23 identifiée initialement en Écosse en 1995 (**Zarrilli et al., 2009**).

Le gène OXA-23, chez *A. baumannii*, a été décrit sur plusieurs types de transposons (Tn 2006, Tn2007 et Tn2008) localisé au sein du chromosome ou sur différents plasmides,

démontrant la grande diversité des voies de dissémination de l'enzyme (**Mugnier et al., 2010**). En Algérie, Mugnier et al. , ont rapporté la première OXA-23 isolée à partir d'une souche d'*A. baumannii* en 2004 (**Mugnier et al., 2010**).

Concernant l'environnement des gènes codant pour ces oxacillines, ils n'ont jamais été identifiés au sein de structures de types intégrons alors que ces mêmes structures sont paradoxalement à l'origine de la dissémination de la plupart des autres gènes oxacillines à spectre de substrat restreint. La séquence d'insertion IS*Aba1* à l'origine de la surexpression de la céphalosporinase naturelle d'*A. baumannii*, est présente en amont du gène de cette oxacilline et qui contribue donc également à l'expression du gène *bla*_{OXA-23} et peut être à son acquisition (**Touati et al., 2012**). Bakour et al. , ont également rapportés des souches d'*A. baumannii* en Algérie renfermant le gène *bla*_{OXA-23} associé ou non à *bla*_{OXA-72}. L'enzyme carbapénémase de type OXA-72 a été déjà signalée dans la région Asie-Pacifique, en Europe, et en Amérique du Sud mais pas en Afrique du Nord (**Bakour et al., 2012**).

Le gène *bla*_{OXA-24}, est moins fréquent que OXA-23 (**Qi et al., 2008**). OXA-143 a été identifiée chez un isolat d'*A. baumannii* isolé au Brésil (**Higgins et al., 2009**).

OXA-58 a été initialement localisé sur un plasmide chez *A. baumannii* (**Poirel et al., 2005**), est souvent identifiée en Amérique du Sud, a été également trouvé en Europe et en Amérique latine (**Zarrilli et al., 2009**). En Algérie, le gène *bla*_{OXA-58} a été rapporté pour la première fois chez douze isolats cliniques d'*A.baumannii* isolés au CHU de Tlemcen (**Drissi et al., 2010**).

La multirésistance chez les souches d'*A. baumannii* isolées au niveau des hôpitaux est un phénomène de plus en plus remarquable avec le nombre important de mécanismes pouvant être incriminés dans la résistance aux β -lactamines, particulièrement la résistance aux carbapénèmes. En Algérie, plusieurs études sur la résistance aux antibiotiques chez *A. baumannii* au sein des grands hôpitaux d'Algérie ont été publiées. Notre objectif dans cette étude est d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques ainsi que la caractérisation des mécanismes de résistance aux β -lactamines chez des souches d'*A. baumannii* isolées au Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran.

Afin de développer cet aspect, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- ✓ Collecter de souches d'*Acinetobacter baumannii* à partir du laboratoire de bactériologie du centre hospitalo-universitaire d'Oran.
- ✓ Vérification de l'identité des souches.
- ✓ Détermination de phénotypes de résistance aux carbapénèmes.

Introduction

- Recherche de la production es carbapénémases .
 - Recherche de la production des Métallo β -lactamases.
 - Recherche de la production de BLSE.
- ✓ Détermination des CMI.



*Matériel et
méthodes*

1. Souches bactériennes

Cette étude est réalisée sur 130 souches d'*A. baumannii*, isolées entre Janvier et Décembre 2014 au niveau de l'établissement Hospitalo-Universitaire d'Oran.

Les souches d'*A. baumannii* collectées étaient identifiées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'EHU d'Oran à l'aide de galeries API20 NE (Bio-Mérieux, France), La sensibilité des souches d'*A. baumannii* vis-à-vis des antibiotiques était déterminée, puis les souches sont conservées, et acheminées vers le laboratoire de microbiologie de l'Université Abderrahmane MIRA, Bejaia.

L'identité de toutes les souches est vérifiée comme suit :

- **Utilisation du citrate (comme seule source de carbone)**

À partir de plusieurs colonies, la pente du milieu citrate de Simmons est ensemencée par strie longitudinale. L'incubation est effectuée à 37°C, la durée va de 24h jusqu'à 7 jours pour certaines bactéries. Une coloration bleue du milieu due à l'alcalinisation indique un test positif.

- **Fermentation des sucres (glucose, saccharose et lactose), production du gaz et d'H₂S sur gélose TSI**

On ensemence la surface de la gélose TSI par stries, puis le culot par piqure centrale. On Incube à 37°C pendant 24 h. La lecture se fait comme suit :

- ✓ Fermentation du lactose + : virage au jaune de la pente.
- ✓ Fermentation du glucose + : virage au jaune au fond du tube.
- ✓ Fermentation du saccharose + : virage au jaune au centre du tube.
- ✓ Production de gaz : apparition de bulles.
- ✓ Production d'H₂S : noircissement du milieu

2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité des souches d'*A. baumannii* vis-à-vis des antibiotiques était déterminée au niveau du laboratoire de microbiologie d'EHU d'Oran 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**) voir (Tableau annexe II).

3. Détection phénotypiques de la résistance aux carbapénèmes

3.1. Recherche de la production de carbapénémases

106 souches résistantes à l'imipénème sont soumises aux tests suivant :

a. Test de Hodge modifié

Un disque d'imipénème est appliqué au centre d'une boîte de Mac conkey additionné de ZnSO₄ préalablementensemencée avec une souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922 (sensible à tous les antibiotiques), ensuite les souches à tester sont ensemencées sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte en présence d'un témoin positif et d'un autre négatif (Fig. 1). On ajoute 10 µl de cloxacilline (75mg/ml) sur le disque d'imipénème. Après 24h d'incubation à 37°C, 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 de *E. coli* (Lee et al, 2010 ; CASFM, 2013).

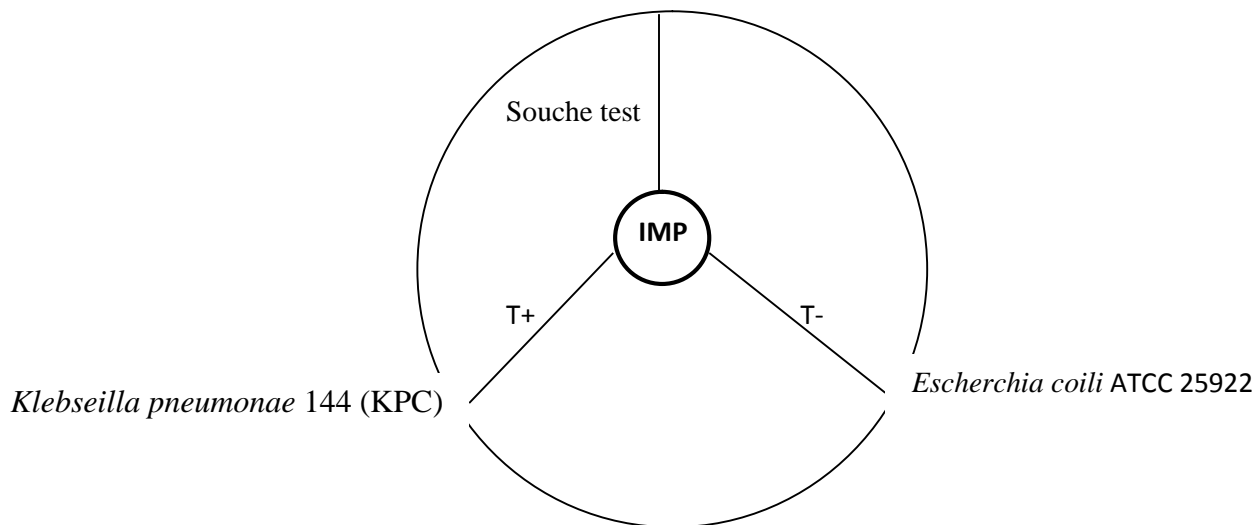


Figure 1 : Schéma du test de Hodge modifié

b. Test à l'EDTA

- Méthode des disques combinés

Deux disques d'imipénème (10µg) sont déposés suffisamment distant(15mm) sur la même boîte de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec la souche à tester, l'un comme témoin et sur l'autre un volume de 5µl de solution d'EDTA [750µg d'EDTA (Ethylène Diamine Tétra-Acétique)] est ajouté. En outre, 5µl de la solution d'EDTA est ajouté sur un disque vierge (témoin négatif) (Fig. 2). Les diamètres des zones d'inhibition

autour de ces disques sont mesurés et comparés après 16 à 18 h d'incubation à 37 °C. 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 souches probablement productrices de MBL (Yong *et al*, 2002).

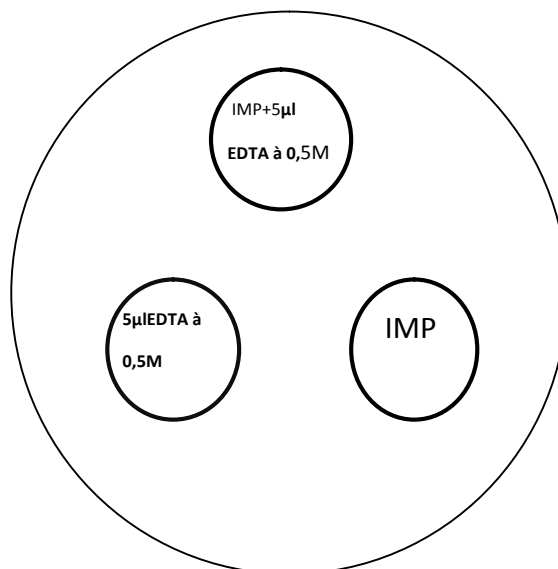


Figure 2 : Disposition des disques (Méthode des disques combinés)

- **Méthode EDTA-disque synergie**

Le test de l'EDTA-disque synergie est réalisé en utilisant un disque d'imipénème (10µg) et un disque vierge imbibé avec 10 µl de solution d'EDTA (1500µg d'EDTA) distant de 15 mm (bord à bord) (Fig. 3). Après 16 à 18 h d'incubation à 37°C, la présence d'une MBL est détectée par la visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA (Jeong *et al*, 2006).

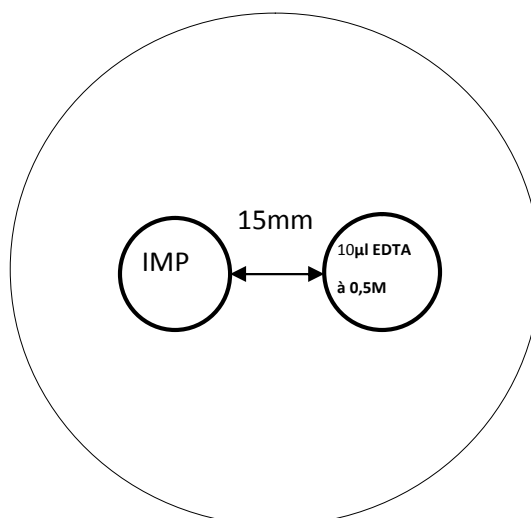


Figure 3 : Disposition des disques (EDTA-disque synergie test)

c. Modified carba NP Test (Bakour *et al.*, 2014)

- **principe**

Modified carba NP Test est une nouvelle technique biochimique de détection des carbapénèmases dont le principe repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu en cas d'hydrolyse de l'imipénème par les enzymes de type carbapénémase, il est valable chez trois types de bactéries (*Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Entérobactéries*).

- **Réactifs**

- Imipénème (TINAM) (Poudre pour solution injectable IV).
- Tampon de lyse: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) (Sigma Aldrich)
- Rouge de Phénol en poudre.
- ZnSO₄, 7 H₂O en poudre (BIOCHEM CHEMOPHARMA).

- **Méthodologie :**

La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- 1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
- 2- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- 3- Ajouter au mélange 180µl d'une solution de ZnSO₄ 10mM.
- 4- Ajuster le pH à 7,5 avec une solution de NaOH (1N).

Pour détecter la production d'une carbapénémase, on procède comme suit :

- 1- Dans un tube Eppendorf, mettre 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %).
- 2- Suspendre une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse et vortexer 1 à 2 min.
- 3- Transférer 100µl dans 2 tubes Eppendorf « A » et « B ».
- 4- Ajouter 100µl de Solution A dans le tube Eppendorf « A » et 100µl de la Solution

A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf « B ».

5- Vortexer 5 sec puis incuber à 37°C pendant un maximum de 2h.

La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube Eppendorf et les résultats sont interprétés selon le tableau ci-dessous.

Tableau N°IV : Interprétation des résultats du Cabra NP test modifié

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénèmase
Rouge	Orange/Jaune	production de carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable

4. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par Etest.:

La détermination des concentrations minimales inhibitrices de l'imipénème pour les souches productrices de MBL est réalisée en utilisant des bandelettes Etest (AB Biodisk, Sweden).

Les souches sontensemencées par écouvillonnage puis les bandelettes sont déposées (Fig. 4) et les boîtes sont incubées pendant 18 à 24H à 37°C. L'interprétation est effectuée selon les recommandations CASFM, 2013.

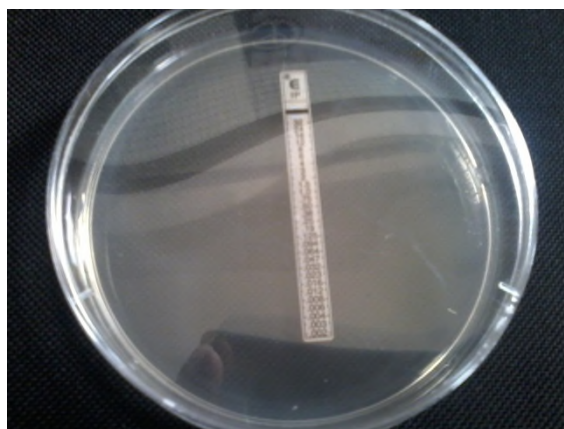


Figure 4 : Détermination de la CMI de IMP par Etest.

La détermination des concentrations minimales inhibitrices de la colistine pour toutes les souches recueillies était réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie d'EHU d'Oran.

3.2 Recherche de la production de β -lactamases à Spectre Etendu (BLSE)

- **DD-TEST (test de synergie)**

La production d'une β -lactamase à spectre étendu pour les souche sensibles l'imipenème a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime et céfepime (30 μ g chacun) à une distance de 1,5mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline-clavulanate) (20 μ g et 10 μ g, respectivement) (Fig. 5). L'augmentation de la zone de l'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de céftazidime et céfepime indique la production d'une BLSE (Jarlier *et al.*, 1988).

- **DD-TEST sur gélose à la cloxacilline**

La présence d'une BLSE peut être masquée par la production d'une céphalosporinase. Afin d'inhiber l'activité céphalosporinase, le test de synergie est refait sur gélose Muller-Hinton additionnée de la cloxacilline (250mg/l) (Morin et Fosse., 2008).

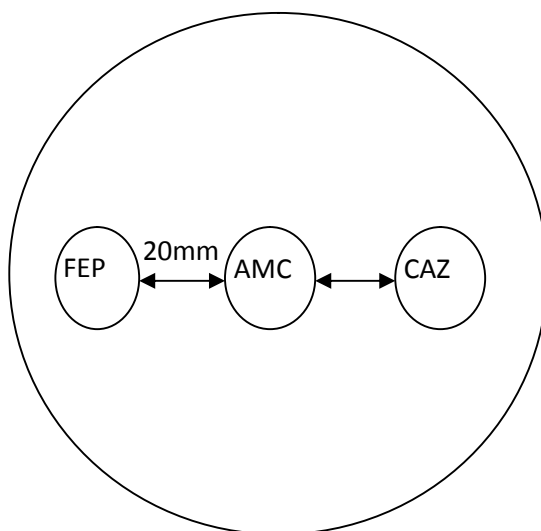


Figure 5 : Disposition des disques d'antibiotiques dans le DD-test



Résultats

I. Recueil des souches bactériennes

130 souches bactériennes d'*A.baumannii* sont collectées de différents prélèvements et services au niveau d'EHU d'Oran, les informations correspondants à ces souches sont donnés dans le tableau N°I (annexe).

I.1 Répartition des souches selon les services

Dans la figure 6, on remarque que les fréquences élevées des souches ont été retrouvées dans les services de réanimation avec des pourcentages de 63% puis le service de chirurgie avec 10%.

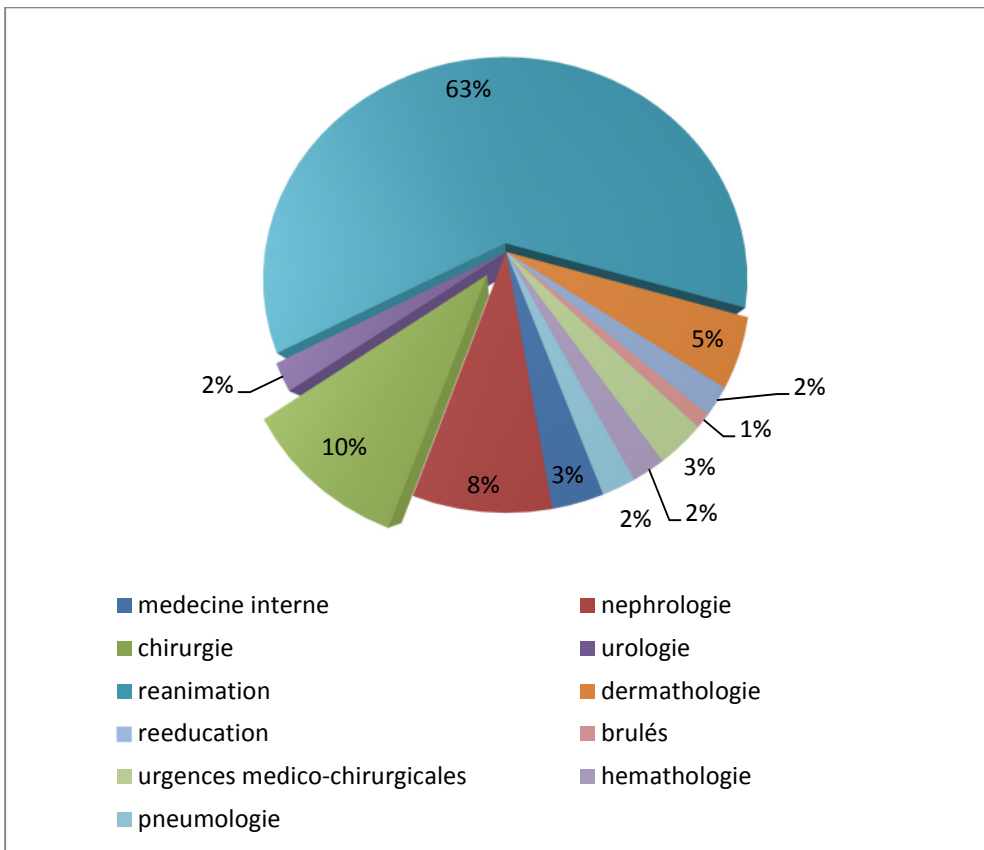


Figure 6 : Répartition des souches selon les services

I.2. Répartition des souches selon le type de prélèvement

On note d'après le tableau N°V que les souches sont principalement isolées à partir des prélèvements d'urines et de pus avec des pourcentages respectivement de 21% et de 18%.

Tableau N°V : Répartitions des souches selon le type prélèvement

Types de prélèvements	Nombre de souches isolées	Types de prélèvements	Nombre de souches isolées
	27(21%)	RE	7(5%)
DN	6(5%)	TR	9(7%)
	23(18%)	CC	6(5%)
PDP	20(15%)	BR	(16%)
LP	6(5%)	Sa	5(4%)

PDP :prélèvement distal protégé,**LP** :liquide pleural,**DN** :données non disponibles,**RE** : ecouvillonnage rectal,**TR**:prélèvement trachéal,**CC** :cathéter central,**BR** :prélevement branchique,**UR** : urine, **Ps** :pus, **Sa**: sang.

I.3. Identification

Nous avons vérifié l'identité des 130 souches, en testant le citrate et le TSI.

a. Milieu Citrate-Simmons en tube incliné

Toutes les souches se sont avérées positives sur le milieu Citrate-Simmons (Fig7)



Figure 7 : Aspect de la souche 510 sur milieu Citrate-Simmons en tube incliné

b. Milieu TSI (triple sugar iron)

La lecture s'est avérée négative pour les 130 souches ce qui confirme leur caractère non fermentaire.

II.Sensibilité des souches aux antibiotiques

- Les résultats de sensibilité aux antibiotiques des souches collectées au niveau de l'hôpital d'Oran sont montrés dans le tableau (**annexe II**).Les résultats des tests phénotypiques que nous avons effectués sont résumés dans le tableau (**annexe III**)

Les taux de résistance de souches d'*A.baumannii* vis-à-vis des antibiotiques testés sont représentés dans la figure suivante :

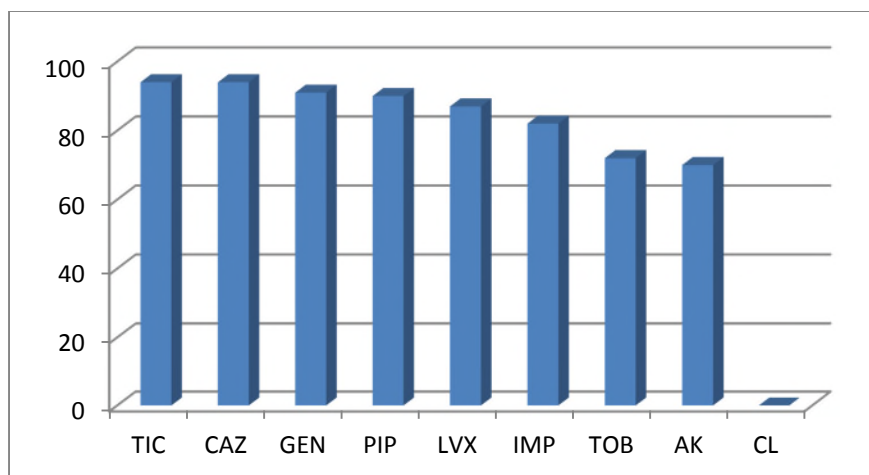


Figure 8 : Taux de résistance vis-à-vis les antibiotiques

Sur les 130 souches collectées, 106 sont résistantes à l'imipénème et 24 sont sensibles

II.1Souches résistantes à l'imipénème

a. Test de Hogde modifié

Le test de Hodge est positif pour les 106 souches d'*A.baumannii* résistantes à l'imipénème (image de trèfle) indiquant ainsi la production probable d'une carbapénémases (Fig8).

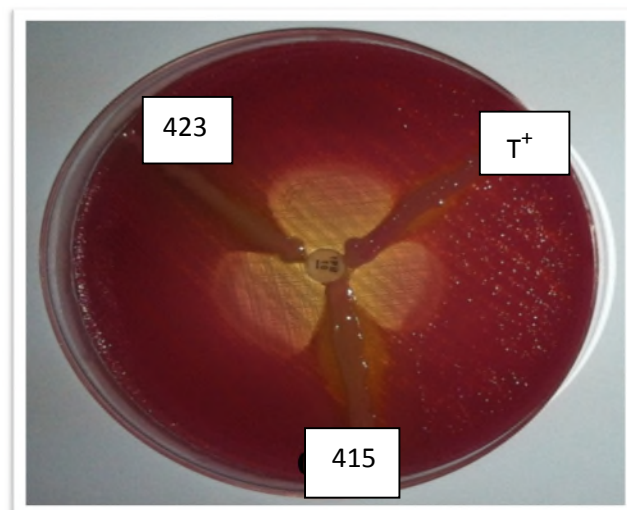


Figure 9: Test de Hodge positif sur MacConkey

b. Recherche de métallo- β -lactamases

L'utilisation de l'EDTA a permis de détecter chez 10 souches la production d'une métallo- β -lactamases (Tableau N°VI)

Tableau N°VI : Diamètre des zones d'inhibition (mm) obtenues avec IMP et EDTA.

Souches	423	482	487	498	499	515	527	539	562	563
Diamètre										
IMP	7	8	6	6	7	6	7	6	7	8
IMP+EDTA (10μl)	20	20	19	19	21	19	20	18	20	22
EDTA (5μl)	6	6	7	7	8	7	7	6	7	8
Synergie entre IMP et EDTA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Résultat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

La figure 9, montre la synergie entre l'EDTA et l'imipénème ainsi qu'une légère augmentation de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème combiné à l'EDTA

comparé au disque d'imipénème seul reflétant ainsi l'effet synergique entre le carbapénème et l'inhibiteur de méthallo- β -lactamases.

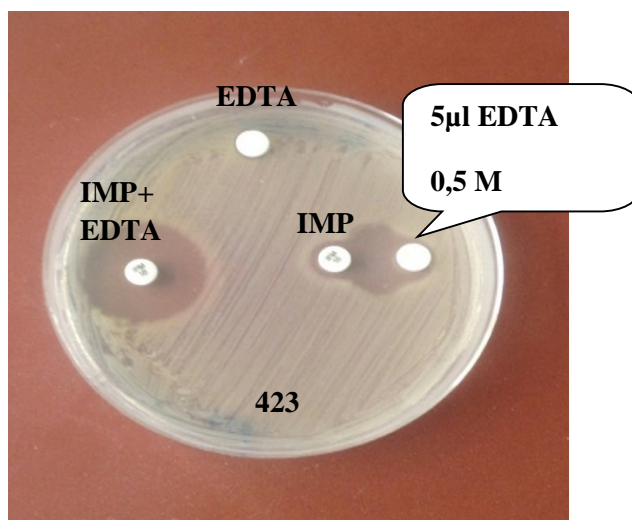


Figure10 : Test EDTA positif (souche 423)

c. CabraNP test modifié

Le test est révélé positif pour les 106 souches testées (résistantes à l'imipénème), mais fortement positif (coloration jaune dans un temps < à une minute) pour 17 souches dont les 10 souches positives pour l'EDTA (M β L).

Le virage de la couleur du rouge au jaune ou au jaune orangé (Fig10) indique la production d'une enzyme carbapénémase par *A.baumannii*.



Figure 11: Test Carba NP modifié positif

d. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les 10 isolats résistants à l'imipénème par la production des méthallo- β -lactamases présentent des CMI très élevées pour l'imipénème ($>32 \mu\text{g/ml}$) (Tableau N°VII)

Tableau N° VII: Résultats des CMI de l'imipénème

Souches EDTA (+)	423	482	487	498	499	515	527	539	562	563
CMI de l'imipénème en($\mu\text{g/ml}$)	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32

La figure 11, montre l'absence d'une zone d'inhibition autour de la bandelette indiquant la forte résistance à l'imipénème des souches productrices des carbapénémases de type méthallo- β -lactamases.



Figure 12 : Image d'une CMI sur gélose Mueller Hinton chez la souche 527

Après la détermination de la concentration minimale inhibitrice pour la colistine, toutes nos souches présentent une sensibilité vis-à-vis cette molécule (CMI < 2).

II.2. Recherche de BLSE chez les souches sensible à IPM

II.2. DD-Test

Les souches sensibles à l'imipénème mais présentant une résistance aux autres β -lactamines (C3G et C4G) ont fait l'objet d'une recherche de BLSE.

Le DD-test es négatif pour toutes les souches sur milieu Muller Hinton seul mais une image de synergie est observée sur ce milieu additionné de cloxacilne pour 5 souches sur un total de 24 indiquant la production probable d'une BLSE (Fig12)

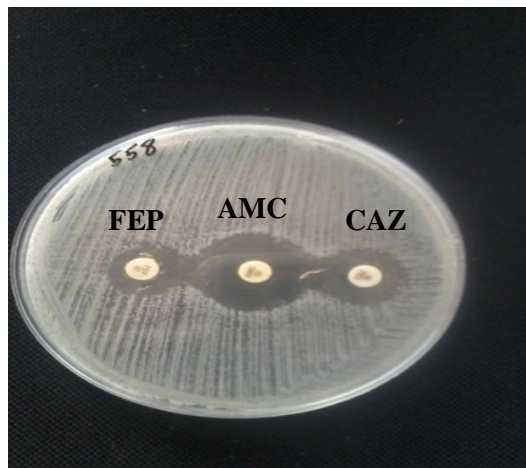


Figure 13 : Image de synergie positive sur gélose Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline chez la souche 558



Discussion

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

De nombreuses études ont rapporté la prédominance des infections à *A. baumannii* dans des services de réanimation (**Elouennass et al., 2003, Al-Agamy et al., 2014**). En Algérie, *A. baumannii* représente 39.9% des infections qui surviennent en réanimation selon le réseau de surveillance Algérien (**Rahal, 2012**). Dans notre étude, 63% des souches d'*A. baumannii* sont isolées dans le service de réanimation. Les principaux facteurs de risque dans ces services sont : la ventilation assistée, l'antibiothérapie à large spectre, le séjour prolongé, le cathétérisme artériel et l'immunodépression (**Joly-Guillou et al., 2006**).

Le site urinaire est le principal site d'infection, 21% des isolats proviennent des urines. La flore digestive est le principal réservoir des germes responsables d'infection urinaires. En Tunisie, un taux de 60% des souches isolées dans les urines, est rapporté par Mkaouar *et al.*, 2008. La résistance d'*A. baumannii* aux β -lactamines reste un cas inquiétant dans notre étude, des taux élevés de résistances : CAZ et TIC (94%) PIP (90%), ces résultats sont proches à ceux obtenues par Zaidi, 2014 dans sa étude réalisée sur des souches d'*A. baumannii* isolés au niveau d'EHU d'Oran avec un taux de résistance de 89,58% pour ces mêmes molécules

Dans notre étude, la résistance aux aminosides est respectivement de 91%, 72%, 70%, pour gentamicine, tobramycine, amikacine. Nos résultats sont supérieurs à ceux retrouvés par Bakour *et al.*, 2012. La résistance aux aminosides se manifeste par plusieurs mécanismes, cependant le mécanisme de résistance le plus fréquent est la production d'enzymes modificatrices. (**Lambert et al., 2006**).

Concernant la résistance aux fluoroquinolones, elle est de 53% en Europe, aux alentours de 37% au Royaume-Uni (**Turner et Greenhalgh, 2003**), de 73% en Inde (**Joshi et al., 2003**) 68% au Maroc (**Elouennas et al., 2003**) et de 54% dans les hôpitaux tunisiens (**Ben Haj Khedher, 2010**). Ainsi, le résultat obtenu durant cette étude paraît le plus élevée avec un taux de résistance de 87,40%. Et cette résistance est principalement due à des mutations, au niveau des gènes *gyrA* et *parC*, respectivement (**Bakour et al., 2013 ; Bakour et al., 2014**).

La résistance d'*A.baumannii* aux carbapénèmes a augmenté de manière alarmante ces dernières décennies, l'usage abusif de cette classe d'antibiotique dans les services hospitaliers y a largement contribué (Chabani *et al.* 2004 ; Ling *et al.*, 2005 ;Picazo *et al.*,2006). Notre étude objective une résistance plus élevée à l'imipénème avec un taux de 82%.

Dans cette étude, 82% des souches d'*A.baumannii* sont productrices des cabapénémases (test Hodge positif). Ce taux est plus élevé comparé à celui rapporté par Zaidi au niveau de même hôpital (Zaidi, 2014) et à Alger par Kara et Milane au niveau de l'hôpital de Ain Naadja (Kara et Milane, 2013) avec taux de 73%. Ces résultats ont été confirmés par « Modified Carba NP test» qui a permis la détection de toutes les enzymes cabapénémases. Les résultats positifs ont été observés à différents incubation pour toutes les souches testées. Un résultat positif a été obtenu à un temps < 1 minutes pour les souches probablement productrices de MβL.

Concernant le test d'EDTA, sur un total de 106 souches d'*A.baumannii* résistante à l'imipénème, 10/106 souches présentent un test d'EDTA positive (9,43%), ce qui indique une probable production de métallo-β-lactamases.

Ce résultat est très inférieur à celui retrouvé par Kara et Milane, 2013 avec un taux de 77,77%.

La CMI de l'imipénème pour les 10 souches productrices de MβL (test EDTA(+)) est supérieur à 32mg/l, Ce résultat est similaire à celui obtenu par Bakour, 2013 dans son étude réalisé sur la résistance aux antibiotiques des souches d'*A.baumannii* isolées au niveau de 5 hôpitaux Algériens.

Selon Livermore et Woodford (2006), le nombre de souche d'*Acinetobacter* qui synthétisent les β-lactamases de type BLSE est faible. En effet, nos résultats vont dans cette même conclusion avec 5/25 (20%) souches imipénème sensible qui résistent probablement par la production d'enzymes de type BLSE.

Après la détermination de la concentration minimale inhibitrice pour la colistine, toutes nos souches présentent une sensibilité vis-à-vis cette molécule (CMI < 2). Cependant, des isolats cliniques résistants à la colistine ont été déjà rapportés dans d'autre pays du monde. 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

infection causées par les souches multi résistantes d'*A.baumannii* (**Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010 et Al-Sweith *et al.*, 2012**). En Algérie, la résistance à la colistine chez les *A. baumannii* a été détectée en 2014 par Bakour *et al.* Cette résistance est associée à une mutation dans le gène *pmrB* (**Bakour *et al.*, 2014**).

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 par Zaidi, 2014 avec un taux de 6,25% d'où nécessité urgente de développer et d'évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques comme la combinaison de la colistine avec tigecycline (**Giamerlou *et al.*, 2008**).



Conclusion

L'étude que nous avons réalisée nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- 130 souches d'*A.baumannii* ont été isolées au niveau de l'Etablissement hospitalier d'Oran.
- Les souches recueillies sont essentiellement au niveau du service de réanimation avec un taux de 63%, et elles sont le plus souvent issus des prélèvements des urines et de pus avec des taux respectivement de 21% et de 18%.
- 106 souches sont résistantes à l'imipénème par production de carbapénémases, dont 10 souches sont productrices des M β L.
- La production des BLSE est retrouvée chez 5 souches.
- Aucune résistance à la colistine n'a été détectée.

Notre étude montre que la résistance aux β -lactamine des souches *A. baumannii*, commence à disséminer d'une façon rapide dans nos hôpitaux, en particulier par production de cabapénémases, en conséquences, les infections à ces bactéries productrices de cabapénémases entraînent de véritables situations d'impasse thérapeutique et sont directement responsables d'une surmortalité.

Des études épidémiologiques seront nécessaires pour évaluer de façon précise la distribution de ces β -lactamases qui pourraient émerger plus dans le futur.

Afin de lutter contre l'émergence de ces souches multi-résistantes dans nos hôpitaux, nous recommandons:

- ✓ Respecter le système de contrôle de l'application stricte des mesures d'hygiène (renforcement de la formation du personnel aux règles préventives, précocité du dépistage. . .).
- ✓ Sensibiliser les visiteurs à l'hôpital des risques du contact direct avec les patients et l'environnement hospitalier afin d'éviter la colonisation de ces derniers.
- ✓ Equiper les laboratoires des outils permettant l'identification rapide des bactéries et la détection rapide de la résistance aux antibiotiques.
- ✓ et un meilleur contrôle de la consommation en antibiotique seraient toutefois des facteurs favorisant une meilleure maîtrise des risques.

Conclusion et perspectives

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

- Identification de type de β -lactamases par des réactions de PCR et séquençage des gènes,
- Recherche des gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques associés aux β -lactamases.
- Typage des souches.



Références bibliographiques

A

Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shib AM, El Kholy A. (2014). Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. *Int J Infect Dis.* **22**: 49-54.

B

Bakour S, Kempf M, Touati A, Ait Ameer A, Haouchine D, Sahli F, Rolain JM. (2012). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *J Med Microbiol.* **61**: 1341-1343.

Bakour S, Touati A, Sahli F, Ameer AA, Haouchine D, Rolain JM. (2013). Antibiotic resistance determinants of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Algeria. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **76**: 529-31.

Bakour S, Touati A, Bachiri T, Sahli F, Tiouit D, Naim M, Azouaou M, Rolain JM. (2014). First report of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and spread of metallo- β -lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. *J Infect Chemother.* **20**: 696-701.

Bakour S, Loucif L, Brunel JM, Touati A, Rolain JM. Rapid identification of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a Modified Carba NP test (Soumis).

Begum S, Hasan F, Hussain S, Ali Shah A. (2013). Prevalence of multi drug resistant *Acinetobacter baumannii* in the clinical samples from Tertiary Care Hospital in Islamabad, Pakistan. *Pak J Med Sci.* **29**: 1253-1258.

Ben Haj Khalifa A. et Khedher M. (2010). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*A.baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Méd Malad Infect.* **40**: 126-128.

Bergogne-Berezin E, Towner KJ. (1996). *Acinetobacter ssp.* as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* **9**: 148-165.

Bogaerts P, Rezende de CR, Roisin S, Deplano A, Huang TD, Hallin M, Denis O, Glupczynski Y. (2010). Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* **67**: 1552-1553.

Bou G et Martínez-Beltrán J. (2000). Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Ag Chemother.* **44**: 428-32.

Brown S, Young HK, et Amyes SGB. (2005). Characterization of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. *Clin Microbiol Infect.* **11**: 15-23.

C

Chabani F, Zoughaghi L, Taouragt K, Arab H, et Benaouda A. (2004). *Acinetobacter baumannii* : épidémiologie et résistance aux antibiotiques. *Prat.* **14**(2): 23-4.

Cicek AC, Saral A, Iraz M, Ceylan A, Duzgun AO, Peleg AY, et al. (2013). OXA- and GES-type β -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol Infect.* **35**: 382-386.

<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12338>.

Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie: recommandations 2013.

Corvec S, Caroff N, Espaze E, Giraudeau C, Drugeon H, et Reynaud A. (2003). AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *J Antimicrob Chemother.* **52**: 629-35.

D

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

Dortet L, Legrand P, Claude-James S, Cattoir V. (2006). Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, two frequently misidentified opportunistic pathogens. *J. Clin. Microbiol.* **44**(12): 4471-4478.

Drissi M, Poirel L, Mugnier PD, Baba Ahmed Z, et Nordmann P. (2010). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **29**: 1457-1458.

E

Elouennass M., Bajou T., Lemnouer A. H., Foissaud V., Hervé V. et Baaj A.J. (2003). *Acinetobacter baumannii*: susceptibility of strains identified in the military instruction hospital Mohammed V, Rabat, Morocco. *Méd Malad infect.* **33**: 361-364.

Références bibliographiques

Euzeby J.P. (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>.

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

F

Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Mimoz O. (2008). La colistine en réanimation. *Journal home.* **7**: 251-258.

G

Ghazawi AA. (2012). *Acinetobacter spp.* Molecular epidemiological studies on sporadic isolates of *Acinetobacter baumannii* in Abu Dhabi. Thèse de doctorat. University of Pécs.

Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. (2008). *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health. *Int J Antimicrob Ag.* **32**: 106-119.

Godineau-Gautheyi N, Lesage D, Tessier F, Kollia D, Daguet GL. (1988). *Acinetobacter calcoaceticus* variété Anti tratus ou *Acinetobacter baumannii*. Etude de la sensibilité aux antibiotiques de 65 souches hospitalières. *Méd Maladi Infect.* **2**:124-129.

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

H

Handal T, Olsen I. (2000). Antimicrobial resistance with focus on oral beta-lactamases. *Eur J Oral Sci.* **108**: 163-174.

Héritier C, Poirel L, Fournier PE, et al. (2005). Characterization of the naturally-occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Ag Chemother.* **49**: 4174-4179.

Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. (2009). OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Ag Chemother.* **53**: 5035-8.

Hujer KM, Hamza NS, et Hujer AM. (2005). Identification of new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 β -lactamase: Defining a unique family of class C enzymes. *Antimicrob Agent Chemother.* **49**: 2941-8.

J

Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. (1988). Extended-broad spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* **10**: 867-878.

Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, Sung KH, Yang KS, Lee K, Young D, Lee SH. (2006). Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol.* **44**: 423-31.

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

Joshi SG, Geeta M, Litake, Krishnarao B, Niphadkar, et Vikram SG. (2003). Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a teaching hospital. *J Infect Chemother.* **9**:187–190.

L

Lambert T. (2006). Aminosides et bactéries à Gram négatif. *In* : **Courvalin P, Leclere R, Bingen E.** 2^{ème} AntibioGramme. Paris: ESKA. 227-244.

Lambert T. (2007). *Acinetobacter.* *In* : **Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, et Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris. P :344- 346.

Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y. (2010). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods.* **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: 338-41.

Livemrosre DM et Woodford N. (2006). The β -lactamase threat in *Enterobacteriaceae*. *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *TRENDS in Microbiology.* **14** (9): 413-420.

M

McConnell MJ, Actis L, Pachón J. (2013). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev.* **37**: 130-155.

Références bibliographiques

Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha SN, Rolain JM. (2013). Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo-beta-lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *Int J Infect Dis.* **17**:e739-e743.

Milane R et Kara B. (2013). Caractérisation des mécanismes de résistances aux β -lactamines chez des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées au niveau de l'hôpital d'Ain Naadja. Mémoire de Master. Option : Microbiologie Moléculaire et Médical. Université d'Abderrahman MIRA. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 579Mas/106.

Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, et Hammami A. (2008). Étude de la résistance des *entérobactéries* aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Méd Malad infect.* **38**: 293-298.

Morin C et Fosse T. (2008). Recent evolution and characterization of extended spectrum beta-lactamase producing *enterobacteria* in the CHU of Pathologie-biologie (2005-2007). **56** (7-8): 417-23.

Moubarek C, Brémont S, Conroy MC, Courvalin P, Lamber T. (2009). GES-11, a novel integron- associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Ag Chemother.* **53**: 3579- 3581.

Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P.(2010). Worldwide dissemination of the bla_{OXA-23} carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis.* **16**: 35-40.

Mussi MA, Limansky AS, Viale AM. (2005). Acquisition of resistance to carbapenem in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. *Antimicrob Agents Chemother.* **49**: 1432-1440.

O

Olaitan AO, Berrazeg M, Fagade OE, Adelowo OO, Alli JA, Rolain JM. (2013). Emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase, Nigeria. *Int J Infect Dis.* **17**:469-470.

O'shea MK. (2012). *Acinetobacter* in modern warfare. *Int J Antimicrob Ag.* **39**: 363-75.

P

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

Philippon A, Arlet G. (2006). β -Lactamases des bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Annal Biol clin.* **64** (1): 37-51.

Références bibliographiques

Picazo JJ, Betriu C, Oratore C, Rodriquez-Avial I, Culebras E, Gomez M, et Lopez F. (2006). Antimicrobial resistance surveillance: Vira study. *Enfeca Microbiol Clin.* **24**(10) :617-28.

Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, et Nordmann P. (2005). Outbreak of extended-spectrum beta-lactamases 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 β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii*: évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques.* **8**: 100-107.

Poirel L, Nordmann P. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms of Resistance, Multiple β - lactamases. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis.* Eds. Springer Sc . 129-143.

Q

Qi C, Lalczyński M, Parker M, Scheetz MH. (2008). Characterization of genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected from 2004 to 2007. *J Clin Microbiol.* **46**: 1106-9.

R

Rahal KM. (2012). Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. http://www.sante.dz/aarn/documents/pdf/rapport_13.pdf.

Rolain JM, Diene SM, Kempf M, Gimenez G, Robert C, Raoult D. (2013). Real-time sequencing to decipher the molecular mechanism of resistance of a clinical pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolate from Marseille, France. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**: 592-596.

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, Djahoudi A, Rolain JM. (2012). Emergence of bla_{OXA-23} and bla_{OXA-58} carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria. *Int J Antimicrob Ag.* **40**: 89-91.

W

Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zorawski M, Krawczyk M, Trynieszewska E. (2008). Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, the role of AdeABC (RND family) efflux pump in the resistance to antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol.* **46**: 257-67.

Y

Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. (2002). Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol.* **40**: 3798-3801.

Z

Zaidi FZ. (2014). Caractérisation des mécanismes de résistances aux β -lactamines chez des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées à l'Etablissement hospitalier universitaire d'Oran. Mémoire de Master. Option : Microbiologie Moléculaire et Médical. Université d'Abderrahman MIRA. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 579MAS /130.

Zarilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, 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.

Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. (2013). Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Ag.* **41**: 11-19.



Annexes

Annexe I

Tableau N°I : Données sur les souches recueillies de l'EHU d'Oran

CODE	Sexe	Age	Service	Type de prélèvement	CODE	Sexe	Age	Service	Type de prélèvement
517	m		medint	Ur	506	m	41	reamed	Cc
414	m	82	nephro	Ur	508	f	24	reamed	Ur
424	m	16	reaumc	RE	507	f	32	chgen	SA
415	m	62	nephro	Ur	509	m		reamed	Cc
416	m	43	chorth	Ps	510	m	51	reamed	Tr
422	f	60	uro	Ps	511	m	17	reamed	Tr
429	m	57	reamed	pdp	514	m	32	reamed	Ur
442	m	56	medint	Ur	515	f	61	nephro	Ur
431	f	38	reaumc	Ur	516	f	22	reamed	Sa
428	m	57	reaumc	LP	520	m	32	reamed	Br
427	m	61	dermat	Ps	518	m	82	reaumc	Br
430	m	56	reaumc	Ps	519	m	45	reaumc	Br
425	m	30	reaumc	LP	521	m	40	reach	Pdp
423	f	56	nephro	Ur	522	m		reaumc	Cc
432	m	39	reaumc	Lp	524	m	75	uro	Ur
433	m	60	dermat	Ps	523	m	29	umc	Ur
435	m		reamed	LP	527	m		reamed	Br
436	f	59	pneumo	Ps	526	m	22	reamed	Br
437	f	59	pneumo	Dn	528	m	73	chgen	Ps
438	m	27	reamed	Ur	529	f	60	dermat	Ps
439	f		hemato	Re	532	m	67	reamed	DN
445	f		reamed	Tr	530	m	57	reach	Tr
446	m	25	reach	Tr	533	f	27	medint	Cc
450	m	20	reamed	Br	531	m		reaumc	Br
454	m	26	reamed	Br	535	f	44	umc	DN
448	m	41	reach	Br	536	m	27	reaumc	Br
451	m	29	reaumc	Br	537	m	54	chtho	Ps
452	m		reach	Br	538	f	60	reamed	Ec
453	m	40	reaumc	Br	539	m	61	reaumc	Tr
455	m	50	nephro	Ur	540	f	23	reamed	Tr
456	m		reamed	Br	541	m	41	reamed	Cc
458	f	28	nephro	Ur	543	f	40	medint	Ur
459	m	73	reaumc	Br	544	f	60	dermat	Ps
460	f		reamed	Br	546	f	60	reach	Tr
461	m	27	reaumc	Re	547	m	75	umc	Ps
462	m	62	reach	Ps	549	f	71	neuruch	Ps
463	m	26	reaumc	Br	551	f	64	chvas	Ps
464	m		reamed	Br	552	m	20	reed	Ur
470	m		reaumc	RE	554	f	38	brul	Sa
482	m	48	reaumc	pdp	555	m	55	reach	Pdp
468	f	46	reamed	Ur	559	m	62	reaumc	Pdp
471	m	48	reaumc	Re	558	f	45	nephro	Sa
467	m	51	reaumc	pdp	560	m	82	dermat	Ur
469	m	52	reaumc	Ur	561	f	72	neuruch	DN

473	m	52	reaumc	pdp	562	m		reamed	Ps
466	f		reamed	pdp	563	f	40	reach	DN
472	f	62	reaumc	Ps	564	m	47	reamed	Ur
475	f	52	reamed	pdp	565	m	82	chvas	Ps
476	m	36	reaumc	pdp	568	m		neurch	Ps
478	m	61	reamed	pdp	567	m	29	reaumc	Pdp
481	f		chtho	Tr	571	m		reaumc	Pdp
483	m	29	reamed	Ur	570	m		reaumc	Pdp
480	f	86	nephro	Ps	573	m		reach	Pdp
484	m	67	reamed	Br	575	m		reach	Pdp
486	f		nephro	Ur	569	f	28	nephro	Ur
487	m	39	hemato	Re	574	m	42	reach	Pdp
491	m		reaumc	Br	576	m	59	chgen	Pdp
493	m	58	chhb	Lp	577	m	59	reach	Cc
492	m		umc	Br	580	m	18	reamed	Pdp
498	f	71	reed	Ps	579	m		reaumc	Ps
497	m	23	reamed	Ur	578	m	16	reaumc	LP
499	m	48	reach	Ur	584	m	22	reach	Sa
504	f	45	dermat	Ps	585	m		reach	DN
502	f	48	dermat	Ps	545	m	23	reed	Ur
501	f	31	reaumc	Ur	583	m	51	reamed	Pdp

Tableau N°II : Résultats des profils de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii*

code	TIC	PIP	CAZ	IPM	AMK	GEN	LVX	TOB	COL	code	TIC	PIP	CAZ	IMP	AMK	GEN	LVX	TOB	COL
517	6	6	6	9	23	14	6	ND	.94	506	ND	ND	6	14	6	ND	6	ND	.95
414	ND	6	6	10	6	ND	6	6	.75	508	6	6	6	11	6	15	6	20	.94
424	ND	ND	6	15	6	ND	7	ND	.65	507	6	6	6	13	18	20	12	23	.85
415	ND	ND	6	9	6	ND	6	ND	.90	509	6	6	6	7	6	6	6	6	.66
416	6	6	9	11	21	13	9	25	.6	510	6	6	6	12	6	6	6	6	.65
422	ND	ND	11	10	ND	ND	9	23	.8	511	6	6	6	9	6	6	6	6	.9
429	ND	6	6	12	ND	ND	11	21	.094	514	6	6	6	12	6	13	6	6	.94
442	6	6	11	28	15	15	9	ND	.15	515	6	6	6	10	19	11	10	6	.125
431	ND	6	6	35	ND	ND	6	6	.125	516	22	22	18	28	22	26	28	26	.125
428	ND	ND	ND	25	23	ND	19	ND	.75	520	6	12	6	10	10	6	6	19	.94
427	6	10	6	7	6	6	8	18	.75	518	ND	8	6	10	6	6	6	6	.75

Annexes

430	D20	10	6	26	24	13	20	22	ND	519	6	6	6	9	6	6	6	6	.85
425	6	6	6	10	6	6	6	6	.94	521	6	7	6	14	6	6	6	ND	.66
423	6	6	6	6	20	6	16	10	.125	522	6	10	6	12	6	6	6	6	.75
432	ND	6	6	11	6	ND	8	6	ND	524	6	8	6	13	6	6	6	6	.125
433	6	10	6	6	12	6	9	21	.38	523	6	9	6	9	6	6	6	6	.125
435	ND	6	6	24	ND	ND	12	6	.38	527	6	12	6	12	6	6	6	17	.125
436	ND	6	6	6	6	ND	8	6		526	6	ND	6	11	6	6	6	6	.65
437	6	6	6	9	6	6	6	6	.125	528	6	6	6	15	19	6	11	12	.75
438	ND	6	6	8	ND	ND	ND	12	.38	529	6	6	6	8	6	ND	6	6	.33
439	6	6	6	10	24	11	13	12	.125	532	6	11	6	9	18	6	11	6	.125
445	6	6	6	7	6	6	8	6	.38	530	27	24	22	34	20	20	28	18	.125
446	6	ND	6	8	6	6	10	6	.94	533	6	6	6	6	20	6	12	6	.125
450	6	6	6	11	6	6	6	6	.75	531	6	8	6	10	6	6	6	6	.125
454	6	6	6	27	6	6	10	6	.65	535	6	10	6	6	18	6	16	11	.125
448	6	6	6	6	6	6	6	6	.66	536	6	6	6	26	6	6	ND	6	.125
451	6	6	6	9	6	6	6	6	.75	537	6	6	6	9	6	6	6	6	.125
452	6	10	6	10	ND	ND	10	ND	ND	538	6	10	12	7	9	8	26	10	.125
453	6	6	6	12	ND	6	6	6	ND	539	6	10	6	10	6	6	6	6	.125
455	6	ND	6	9	21	ND	12	ND	ND	540	6	11	6	7	6	6	7	18	.125
456	ND	ND	6	10	6	ND	8	ND	ND	541	6	6	6	9	6	6	6	6	.125
458	ND	ND	ND	10	24	ND	8	ND	ND	543	6	6	6	6	18	6	10	11	.125
459	ND	6	ND	26	6	ND	6	ND	ND	544	ND	6	12	8	ND	ND	6	25	.125
460	ND	6	ND	33	6	ND	6	ND	ND	546	6	6	6	22	21	6	12	6	.125
461	ND	ND	10	6	9	ND	22	ND	N D	547	6	6	6	13	6	6	6	6	.125
462	ND	ND	N D	24	6	ND	6	ND	ND	549	6	6	6	9	19	6	10	11	.125
463	ND	ND	6	13	6	ND	8		ND	551	10	12	6	10	6	6	6	13	ND
464	ND	ND	6	14	6	ND	12	ND	ND	552	6	11	6	8	8	6	6	6	ND

Annexes

470	ND	10	ND	10	ND	ND	10	ND	ND	554	6	13	6	11	6	6	6	6	ND
482	6	6	6	12	6	6	6	16	ND	555	26	21	21	32	22	21	23	22	ND
468	6	9	6	15	6	6	6	6	.125	559	27	18	22	34	19	21	25	18	.125
471	ND	ND	ND	6	6	ND	ND	ND	.125	558	23	19	23	33	23	24	28	23	.125
467	20	13	11	13	24	6	26	8	.125	560	6	6	6	9	6	6	6	6	.125
469	6	11	6	12	6	ND	6	6	.125	561	6	8	6	11	6	6	6	6	.125
473	6	6	6	6	11	15	14	25	ND	562	6	6	6	7	20	6	6	9	ND
466	6	6	6	15	6	6	6	6	ND	563	6	6	6	8	16	6	6	6	.125
472	ND	ND	ND	8	ND	ND	10	ND	ND	564	6	6	6	24	26	13	18	14	.125
475	6	10	6	7	6	6	10	22	.125	565	6	6	6	8	6	6	10	6	.125
476	ND	ND	ND	10	22	ND	22	ND	.125	568	ND	ND	ND	10	6	ND	6	ND	ND
478	ND	ND	ND	6	6	ND	6	ND	.125	567	ND	ND	6	8	6	ND	6	ND	.125
481	ND	ND	ND	9	6	ND	6	ND	ND	571	ND	ND	ND	9	6	ND	10	ND	.125
483	ND	ND	6	9	6	ND	6	ND	ND	570	ND	ND	ND	37	25	ND	26	ND	ND
480	ND	6	6	26	23	ND	6	ND	ND	573	ND	23	25	24	24	ND	26	ND	ND
484	ND	ND	ND	11	6	ND	8	ND	ND	575	ND	6	10	24	11	ND	6	ND	.125
486	ND	ND	10	10	27	ND	10	ND	ND	569	6	6	6	11	6	6	6	6	.125
487	ND	ND	6	8	21	ND	14	ND	ND	574	ND	ND	ND	10	6	ND	6	ND	.125
491	6	8	7	11	9	6	25	9	ND	576	ND	ND	ND	37	6	ND	8	ND	ND
493	6	6	6	6	21	10	13	10	.9	577	ND	ND	ND	10	6	ND	6	ND	.33
492	6	7	15	13	11	9	22	10	.6	580	ND	ND	ND	10	6	ND	6	ND	.69
498	6	6	6	7	22	12	6	21	.33	579	ND	6	10	24	6	ND	6	ND	.125
497	6	6	6	25	15	6	9	6	.55	578	ND	ND	ND	9	6	ND	6	ND	ND
499	6	6	10	16	29	15	15	26	.56	584	ND	6	6	13	ND	ND	8	6	.125
504	6	6	6	10	6	6	6	6	.66	585	ND	6	ND	7	6	ND	9	ND	ND
502	6	6	6	11	10	6	6	15	ND	545	6	6	6	12	6	6	6	6	.125
501	6	6	6	12	6	6	6	8	.125	583	ND	8	ND	11	ND	ND	6	ND	ND

Tableau N°III : Résultats des phénotypes de résistance aux β -lactamines

Code	IMP	Hodge test	Carba NP test	EDTA	DDtest	Code	IMP	Hodge test	Carba NP test	EDTA	DDtest
517	9(R)	+	+	-	/	506	14(R)	+	+	-	/
414	10(R)	+	+	-	/	508	11(R)	+	+	-	/
424	15(R)	+	+	-	/	507	13(R)	+	+	-	/
415	9(R)	+	+	-	/	509	7(R)	+	+	-	/
416	11(R)	+	+	-	/	510	12(R)	+	+	-	/
422	10(R)	+	+	-	/	511	9(R)	+	+	-	/
429	12(R)	+	+	-	/	514	12(R)	+	+	-	/
442	28(S)	/	/	/	-	515	6(R)	+	++	+	/
431	35(S)	/	/	/	+	516	28(S)	/	/	/	-
428	24(S)	/	/	/	-	520	10(R)	+	+	-	/
427	7(R)	/	/	/	/	518	10(R)	+	+	-	/
430	26(S)	-	-	-	-	519	9(R)	+	+	-	/
425	10(R)	+	+	-	/	521	14(R)	+	+	-	/
423	7(R)	+	++	+	/	522	12(R)	+	+	-	/
432	11(R)	+	+	-	/	524	13(R)	+	+	-	/
433	6(R)	+	+	-	/	523	9(R)	+	+	-	/
435	24(S)	/	/	/	-	527	7(R)	+	++	+	/

Annexes

436	6(R)	+	++	-	/	526	11(R)	+	+	-	/
437	9(R)	+	+	-	/	528	15(R)	+	+	-	/
438	8(R)	+	+	-	/	529	8(R)	+	+	-	/
439	10(R)	+	+	-	/	532	9(R)	+	+	-	/
445	7(R)	+	+	-	/	530	34(S)	/	/	/	-
446	8(R)	+	+	-	/	533	6(R)	+	+	-	/
450	11(R)	+	+	-	/	531	10(R)	+	+	-	/
454	27(S)	/	/	/	-	535	6(R)	+	+	-	/
448	6(R)	+	+	-	/	536	26(S)	/	/	/	-
451	9(R)	+	+	-	/	537	9(R)	+	+	-	/
452	10(R)	+	+	-	/	538	7(R)	+	+	-	/
453	12(R)	+	+	-	/	539	6(R)	+	++	+	/
455	9(R)	+	+	-	/	540	7(R)	+	+	-	/
456	10(R)	+	++	-	/	541	9(R)	+	+	-	/
458	10(R)	+	+	-	/	543	6(R)	+	++	-	/
459	26(S)	/	/	/	-	544	8(R)	+	+	-	/
460	33(S)	/	/	/	+	546	24(S)	/	/	/	-
461	6(R)	+	+	-	/	547	13(R)	+	+	-	/
462	24(S)	/	/	/	-	549	9(R)	+	+	-	/
463	13(R)	+	+	-	/	551	10(R)	+	+	-	/
464	14(R)	+	+	-	/	552	8(R)	+	+	-	/

Annexes

470	10(R)	+	+	-	/	554	11(R)	+	+	-	/
482	8(R)	+	++	+	/	555	32(S)	/	/	/	-
468	15(R)	+	+	-	/	559	34(S)	/	/	/	-
471	6(R)	+	+	-	/	558	33(S)	/	/	/	+
467	13(R)	+	+	-	/	560	9(R)	+	+	-	/
469	12(R)	+	+	-	/	561	11(R)	+	+	-	/
473	6(R)	+	+	-	/	562	7(R)	+	++	+	/
466	15(R)	+	+	-	/	563	8(R)	+	++	+	/
472	8(R)	+	+	-	/	564	24(S)	/	/	/	-
475	7(R)	+	+	-	/	565	8(R)	+	+	-	/
476	10(R)	+	+	-	/	568	10(R)	+	+	-	/
478	6(R)	+	+	-	/	567	8(R)	+	+	-	/
481	9(R)	+	++	-	/	571	9(R)	+	+	-	/
483	9(R)	+	++	-	/	570	37(S)	/	/	/	+
480	26(S)	/	/	/	-	573	24(S)	/	/	/	-
484	11(R)	+	+	-	/	575	24(S)	/	/	/	-
486	10(R)	+	++	-	/	569	11(R)	+	+	-	/
487	6(R)	+	++	+	/	574	10(R)	+	+	-	/
491	11(R)	+	+	-	/	576	37(S)	/	/	/	-
493	6(R)	+	+	-	/	577	10(R)	+	+	-	/
492	13(R)	+	+	-	/	580	10(R)	+	+	-	/

498	6(R)	+	++	+	/	579	24(S)	/	/	/	-
497	25(S)	/	/	/	+	578	9(R)	+	+	-	/
499	7(R)	+	++	+	/	584	13(R)	+	+	-	/
504	10(R)	+	+	-	/	585	7(R)	+	+	-	/
502	11(R)	+	++	-	/	545	12(R)	+	+	-	/
501	12(R)	+	+	-	/	583	11(R)	+	+	-	/

Souches productrices des Métallo β -lactamases.

Souches productrices de BLSE.

Tableau N°VIII: liste des antibiotiques testés. (CYPRESS DIAGNOSTICS BIO-RAD®)
(CA-SFM, 2013).

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque en μ g	Famille	Diamètre critique (mm)	
				S	R
Céftazidime	CAZ	30	C3G	≥ 21	< 19
Imipénème	IMP	10	Carbapénèmes	≥ 24	< 17
Pipéracilline	PIP	75	Ureidopénicillines	≥ 18	< 12
Ticarcilline	TIC	75	Carboxypénicillines	≥ 22	< 18
Tobramycine	TOB	10	Aminosides	≥ 16	< 16
Amikacine	AK	30	Aminosides	≥ 17	< 15
Gentamicine	GN	10	Aminosides	≥ 16	< 16
Lévofloxacine	LVX	5	Fluoroquinolones	≥ 20	< 17
Amoxicilline-clavulanate	AMC	10-20	Aminopénicillines	≥ 17	< 15
Colistine	COS	10	Polymexines	≥ 15	< 15

Annexe II

Composition des milieux de cultures (g/l)

Composition du Milieu Muller Hinton (HIMEDIA)

Infusion de viande de bœuf.....	300g	Amidon.....	1,5g
Hydrolysate de caséine.....	17, 5g	Agar.....	17g
pH.....		7,3± 0,1	

Composition de Milieu Mac Conkey Agar(HIMEDIA)

Peptone de caséine.....	17g	Lactose	10g
Peptone de viande.....	3g	Nacl	5g
Sels biliaires	1,5g	Agar	13,5g
Cristal violet	0,001g	Rouge neutre.....	0,03g
pH.....		7,1±0,2	

Composition de Milieu Citrate de Simmons

Ammonium dihydrogenophosphate.....	1g	Agar.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g	Citrate de sodium.....	2g
Sulfate de magnésium.....	0,2g	Bleu de bromothymol...0,08g	
Phosphate dipotassique.....	1g	pH.....	6,6 ± 0,1

Composition de Milieu TSI

Extrait de viande de bœuf... ..	3g	Extrait de levure.....	3g	Agar....	12g
Peptone tryptique.....	20g	Chlorure de sodium.....	5g	Saccharose ...	10g
Citrate ferrique.....	0.3g	Lactose.....	10g	Glucose.....	1 g
Thiosulfate de sodium...0.3g		Rouge de phénol.....	0.05g	pH=	7,4

Résumé :

L'objectif de ce travail est la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux β -lactamines des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées des patients entre Janvier et Décembre 2014 à l'EHU d'Oran. Des tests phénotypiques de détection de β -lactamases ont été réalisés: test de Hodge modifié, test à l'EDTA, Carba NP test modifié, Etest, et DD-test.

Au cours de notre étude, 130 souches d'*Acinetobacter baumannii*, sont résistantes aux β -lactamines, parmi elles 106 résistent à l'imipénème (test Hodge et Carba NP test positif), 10 souches sont positives au test EDTA, et 5 souches positives au DD-test. Toutes les souches sont sensibles à la colistine. La résistance aux β -lactamines est due, soit à la production de BLSE, ou à la production des carbapénémases (dont les M β L).

Il est certain que seuls des efforts soutenus en termes d'hygiène et de suivi épidémiologique seront à même de pouvoir contrôler ce genre de dissémination extrêmement préoccupante en santé publique.

Mots clés : Etablissement hospitalier universitaire d'Oran, *Acinetobacter baumannii*, antibiotiques, β -lactamases, phénotypes de résistance.

Abstract:

The aim of this study was phenotypic characterization of mechanisms of resistance of *Acinetobacter baumannii* strains to β -lactams isolated from patients between January and December 2014 at the EHU Oran. Phenotypic testing of β -lactamase activity was conducted: modified Hodge test, EDTA test, modified Carba NP test, Etest, and DD-test.

In our study, 130 strains of *Acinetobacter baumannii* are resistant to β -lactams, among them 106 were resistant to imipenem (Hodge test and Carba NP test positive), 10 strains were positive to EDTA test, and 5 strains are positive to DD-test. All strains were sensitive to colistin. Resistance to β -lactams would be due to the production of ESBLs, or carbapenemases (including M β L)

it is certain that only a sustained effort in terms of hygiene and epidemiological monitoring will be able to control this kind of dissemination of serious concern in Public Health.

Keywords: Establishing Hospital University of Oran, *Acinetobacter baumannii*, antibiotic, β -lactams, resistance phenotypes.