

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département Biologie



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER
En MICROBIOLOGIE

Présenté par
Khedidjaoui Nesrine
Benzazoua Hadjer

Thème

**Etude de la résistance aux antibiotiques et aux désinfectants des souches
d'acinetobacter isolées du centre hospitalo-universitaire d'Oran**

Soutenu le 13 Juillet 2021 devant le jury composé de :

Président :	Mme. MESLI Asma	Maitre de conférences classe B	U. de Tlemcen
Examineur :	Mme. MKEDDER Ilham	Maitre de conférences classe B	U. de Tlemcen
Encadreur :	Mr. REBIAHI Sid Ahmed	Professeur	U. de Tlemcen

Année universitaire : 2020 - 2021

REMERCIEMENT

El hamdoulillah, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir aidé dans notre travail.

En terminant notre mémoire de fin d'étude, il nous est agréable d'adresser nos vifs remerciements

À tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à élaborer cet ouvrage.

Nous remercions en particulier notre présidente

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur monsieur pour les efforts qu'il a fournis durant notre travail.

Nous remercions ainsi notre examinatrice Mme

Ainsi que tous nos professeurs qui nous ont enseignés durant nos études à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

A la fin nous tenons à remercier tous nos collègues d'étude, particulièrement notre promotion.

ملخص :

يعد اكتشاف المضادات الحيوية أحد التطورات العلاجية المهمة ، لكن استخدامها في مجالات مختلفة وعلى نطاق واسع أدى إلى ظهور مقاومة للمضادات الحيوية ، خاصة في البكتيريا سالبة الجرام ، والتي تمثل مشكلة كبيرة للصحة العامة، ومن بين هذه البكتيريا *Acinetobacter baumannii*.

يتم استخدام العديد من تقنيات البحث لدراسة قابلية و مقاومة *A.baumannii*

Résumé :

La découverte des antibiotiques est l'une des avancées thérapeutiques importante, mais leurs utilisations dans différents domaines et à grande échelle a conduit à l'apparition et l'émergence de la résistance aux antibiotiques notamment chez les bactéries à gram négatif qui représentent un problème majeur de santé publique. Parmi ces bactéries *Acinetobacter baumannii*.

Plusieurs techniques de recherche sont utilisées pour étudier la sensibilité et la résistance d'*A.baumannii* .

Abstract :

The discovery of antibiotics is one of the important therapeutic advances, but their use in different areas and on a large scale has led to the appearance and emergence of resistance to antibiotics especially in gram-negative bacteria that represent a major public health problem. Among these bacteria *Acinetobacter baumannii*.

Several research techniques are used to study the sensitivity and resistance of *A.baumannii*.

Liste des figures

Figure 1 : La morphologie d' <i>A.baumannii</i> sous microscopie électronique à balayage.....	07
Figure 2 : Cultures des souches d' <i>A.baumannii</i> sur gélose Trypticase soja, à gauche : des colonies « smooths » ou lisses, à droite : des colonies « rough » ou rugueuses.....	08
Figure 3 : Les étapes de la formation de biofilm.....	10
Figure 4 : Micrographies FESEM (grossissement X 5000) d'un biofilm in vitro d' <i>A. baumannii</i> formé à la surface d'une lamelle de verre après 24h d'incubation à 37C dans un bouillon Luria-Bertani.	11
Figure 5 : Micrographies FESEM (grossissement X 10 000) d'un biofilm polymicrobien cultivé dans la lumière d'une sonde urinaire.	12
Figure 6 : Microscopie électronique à balayage montrant l'adhésion d' <i>A.baumannii</i> sur les surfaces biotiques, (a) de cellules d' <i>Acinetobacter baumannii</i> attachées à la surface d'une cellule épithéliale humaine alvéolaire. (b) cellules d' <i>Acinetobacter baumannii</i> attachées à la surface de filaments de <i>Candida albicans</i>	13
Figure 7 : Résistance à la céphalotine.	16
Figure 8 : Résistance aux bêtalactamines.	17
Figure 9 : Mécanisme d'action des différents antibiotiques.	18
Figure 10 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	20
Figure 11 : Représentation schématique des interrelations entre <i>A. baumannii</i> et l'épithélium respiratoire.	28
Figure 12 : Réponses immunitaires innées à <i>A. baumannii</i> dans l'épithélium respiratoire.....	29
Figure 13 : Résultat du Colistine E-test pour deux isolats d' <i>A. baumannii</i>	34
Figure 14 : Pourcentage de souches d' <i>A. baumannii</i> sensibles à la colistine à une CMI donnée, déterminée par les bandelettes E-test, Vitek®2, et le test de microdilution. Le seuil de résistance est $\geq 4\mu\text{g/ml}$	37

Liste des Tableaux

Tableau1 : mécanisme d'action et de résistance des antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*.....22

Liste des abréviations :

(BLSE) : des β -lactamases à spectre étendu.

(MDR) : multirésistances.

(NCBI) : centre américain pour les informations biotechnologiques.

(CRISPR) : des gènes de répétition palindromique courte régulièrement espacés.

(Rms) : système de restriction-modification.

(TAS) : des systèmes procaryotes toxine-antitoxine.

(TnSeq) : le séquençage d'insertion de transposons.

(OmpA) : des protéines de la membrane externe.

(MRAB) : *Acinetobacter baumannii* multirésistante.

(USI) : unités de soins intensifs.

(IVRI) : Les infections des voies respiratoires inférieures.

(XDR) : phénotype de la résistance aux antibiotiques.

(LPS) : lipopolysaccharide de la membrane externe.

(MEC) : la matrice extracellulaire.

(NK) : les cellules tueuses naturelles.

(CD) : les cellules dendritiques.

(PRR) : groupes de récepteurs de reconnaissance de formes.

(NOD) : les récepteurs du domaine d'oligomérisation de liaison aux nucléotides.

(DAMP) : les modèles moléculaires associés aux dommages.

(IL-1) : l'interleukine-1.

(MIP-1) : la protéine inflammatoire des macrophages-1.

(MCP-1) : la protéine chimiotactique des monocytes-1.

(TNF- α) : facteur de nécrose tumorale.

(CLSI): Clinical and Laboratory Standards Institute.

(CMI) : la concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.....	1
Synthèse Bibliographique.....	3
Première partie : généralités sur le complexe <i>Acinetobacter baumannii</i>	4
1/ Historique :	4
2/ Identification et position taxonomique :	4
3/ Habitats :	5
4/Epidémiologie :	5
5/Caractères bactériologiques :	7
5-1 Caractères morphologiques :	7
5-2 Caractères cultureux :	8
5-3 Caractères biochimiques :	8
6/Virulence et pouvoir pathogène :	9
7/Biofilm chez <i>Acinetobacters</i> :	10
8/Support génétique d' <i>Acinetobacters</i> :	13
9/La résistance aux antibiotiques :	15
9/1 Résistance naturelle d' <i>Acinetobacter</i> :	15
9-2 Résistance acquise d' <i>Acinetobacter</i> :	16
9-3 Définition de l'antibiotique :	17
9-4 Mode d'action des antibiotiques :	17
9-5 La résistance aux antibiotiques chez <i>Acinetobacters</i> :	18
10/ Interaction hôte- <i>Acinetobacter</i> : l'épithélium respiratoire.....	26

11/Interaction d' <i>A. baumannii</i> avec le système immunitaire de l'hôte :.....	27
12/SARS-CoV-2 et infections à <i>A. baumannii</i> (co-infections) :.....	30
Matériel et Méthodes	31
1/ Technique de diffusion sur milieu gélosé :.....	32
2/ Technique 2 : E-test :	33
3/ Teste de sensibilités aux antibiotiques (par système vitek) :.....	34
Résultats et Discussion	39
Conclusion	41
Références Bibliographiques	44
Bibliographie.....	45

Introduction

L'émergence d'*Acinetobacter baumannii* en milieu hospitalier est devenue une réalité incontournable. En effet, cette bactérie opportuniste est de plus en plus responsable d'infections nosocomiales. Son pouvoir épidémique conjugué à son aptitude de cumuler les mécanismes de résistances font de cette bactérie un agent redoutable surtout chez les sujets immunodéprimés admis en service de chirurgie ou de soins intensifs (**Özge Altınok et al 2020**).

Dès la mise sur le marché de nouvelles molécules d'antibiotiques, le phénomène de résistance s'est intensifié exprimant le fort pouvoir d'adaptation de cette bactérie. Ce qui constitue un risque permanent pour les patients et entrave de manière conséquente les différents traitements thérapeutiques. Les conséquences peuvent être désastreuses traduisant des taux inacceptables de morbidité et de mortalité. Cette situation touche également l'aspect financier enregistrant des coûts de soins exagérés. Cette rançon peut être considérablement allégée par la maîtrise de ces bactéries et surtout de leur antibiorésistances.

La situation en Algérie demeure plus ou moins opaque et nécessite la réalisation de plusieurs études pour comprendre l'étendue de cette problématique. C'est dans cet ordre d'idées que nous nous sommes proposés :

D'analyser le phénomène de résistance aux différents antibiotiques. Il s'agit d'explorer les protocoles expérimentaux réalisés par plusieurs auteurs pour décrire les niveaux de résistances et faire une synthèse permettant de discuter ces résultats en vue d'essayer de proposer une solution adaptée à notre propre contexte.

Synthèse **B**ibliographique

Première partie : généralités sur le complexe *Acinetobacter baumannii***1/ Historique :**

L'histoire du genre *Acinetobacter* a débuté en (1911) avec la découverte par le microbiologiste Néerlandais Beijerinck d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* à partir de prélèvement de sol (**Beijerinck, 1911**).

Le genre *Acinetobacter* a été créé pour la première fois en (1954) par Brisou et Prevot pour séparer les membres non mobiles des membres mobiles de la tribu Achromobacterae. Et se composait des bactéries saprophytes Gram-négatives non pigmentées comprenant à la fois des espèces oxydase négative et oxydase positive. En (1957), Brisou a identifié une espèce typique nommée *Acinetobacter anitratum* (**Brisou, 1954**)

Ce n'est qu'en (1971) que le genre *Acinetobacter* a été officiellement reconnu par les taxonomistes sur la base de caractéristiques biochimiques partagées (**Baumann et al., 1968 ; Henriksen et al., 1973 ; Elhosseiny et al., 2018**).

2/ Identification et position taxonomique :

Des espèces étroitement apparentées présentant des propriétés phénotypiques et biochimiques similaires sont incluses dans le complexe *Acinetobacter calcoaceticus – Acinetobacter baumannii* (complexe ACB), notamment *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis*, *Acinetobacter seifertii* et *Ahocinetobacter dijkspour* ; pour lesquels des méthodes moléculaires d'identification sont requises. Le nom de ce genre vient du mot grec a-kinetos-bacter qui signifie bâtonnet non mobile, bien qu'ils présentent une morphologie coccobacillaire et une motilité convulsive. À ce jour, les approches moléculaires ont permis d'identifier plus de 65 espèces validement publiées au sein du genre *Acinetobacter* (**Lee et al., 2017 ; Li et al., 2017 ; Vijayakumar et al., 2019**).

L'identification d'*Acinetobacter* au niveau de l'espèce reste compliquée et difficile. Des méthodes phénotypiques basées sur les températures de croissance, l'hémolyse, l'acidification du glucose et les sources de carbone/énergie (Vijayakumar *et al.*, 2019), en plus des systèmes automatisés commerciaux (Li Y *et al.*, 2017), sont proposées ainsi que l'identification d'espèces par des études d'hybridation ADN-ADN (Tjernberg et Ursing, 1989), Le séquençage d'ARNr 16S (Misbah *et al.*, 2005) et la spectrométrie de masse à temps d'ionisation par désorption laser assistée par matrice (MALDI-TOF) sont de plus en plus utilisées (Šedo *et al.*, 2013).

3/ Habitats :

Elles font partie de la flore cutanée de l'homme, de la salive, ainsi que du tractus respiratoire (Fournier *et al.*, 2006). En général, *Acinetobacter* spp. Se trouvent dans les environnements humides, y compris les sols / boues humides, les zones humides, les étangs, les usines de traitement de l'eau, les fermes piscicoles, les eaux usées et même l'eau de mer. Ces souches environnementales abritent souvent des mécanismes de résistance aux antibiotiques, notamment des carbapénèmases et des β -lactamases à spectre étendu (BLSE), et peuvent donc servir de réservoirs environnementaux importants pour les éléments de résistance qui se transforment en souches cliniquement adaptées (Al Atrouni *et al.*, 2016).

Certaines espèces médicalement appropriées, telles que *A. calcoaceticus*, *A. lwoffii*, *A. nosocomialis* et *A. pittii*, ont été trouvées sur des légumes, de la viande, des produits laitiers et de la peau humaine (Rafei *et al.*, 2015).

4/Epidémiologie :

Acinetobacter baumannii multirésistante (MRAB) est un agent pathogène émergent rapidement dans le milieu de la santé (Fournier *et al.*, 2006). Où il provoque des infections telles que : les bactériémies, les pneumonies, les méningites, les infections des voies urinaires et infection des plaies (Fournier *et al.*, 2006).

Une infection à MRAB prolonge considérablement la durée du séjour en unités de soins intensifs (USI) (de 6 jours) et la durée médiane d'hospitalisation (de 18 jours) (**Sunenshine et al 2007**).

Dans de nombreux établissements de santé, l'infection endémique à cette bactérie montre des profils épidémiologiques complexes et la coexistence de plusieurs types de souches (**Abboune et al., 2007**). Aussi une septicémie à *Acinetobacter* est associée à une morbidité accrue et à une durée d'hospitalisation prolongée (**Tache et al., 2003**).

Les infections des voies respiratoires inférieures (IVRI) sont les infections bactériennes les plus courantes chez les patients des unités de soin intensif (USI) survenant chez 10 à 25 % de tous les patients des USI et entraînant une mortalité globale élevée allant de 22 à 71 % (**Huang et al., 2013 ; Pileggi et al., 2015**). Étant donné que l'infection à *A. baumannii* survient généralement chez des patients gravement malades en réanimation, le taux de mortalité brut associé est élevé, allant de 26% à 68% (**Seifert et al., 1995 ; Kwon et al., 2007 ; Sunenshine et al., 2007**).

Donc cette bactérie est un marqueur de mortalité accrue chez les patients atteints d'une maladie sous-jacente sévère, mais pas un prédicteur indépendant de la mortalité (**Albrecht et al., 2006**). Celle-ci peut être liée à :

- L'étendue de la résistance aux antimicrobiens.
- À l'efficacité du traitement empirique.
- Et à la disponibilité d'options thérapeutiques définitives (**Tache et al., 2003**).

Une étude de cohorte rétrospective a révélé que les patients atteints de bactériémie à *Acinetobacter* avaient une durée excessive de 5 jours de dépendance à la ventilation mécanique et d'un séjour en unité de soins intensifs, par rapport aux patients gravement malades sans infection à *Acinetobacter* (**Tache et al., 2003**). Une autre étude en Corée a révélé que l'administration d'un traitement antimicrobien empirique inefficace pour la bactériémie à *Acinetobacter* était un prédicteur indépendant de la mortalité à 30 jours (**Kwon et al., 2007**).

Cependant, d'autres études ont trouvé une faible corrélation entre la mortalité des patients et le choix empirique des agents antimicrobiens aux quels l'infection par *Acinetobacter* était persistante (Chen et al., 2005 ; Albrecht et al., 2006 ; Falagas, 2007 ; Sunenshine et al., 2007).

5/Caractères bactériologiques :

5-1 Caractères morphologiques :

Le genre *Acinetobacter* comprend des bacilles ou coccobacilles dont la structure de la paroi cellulaire est typique des bactéries à Gram négatif. Cependant, ces bactéries résistent parfois à la coloration de Gram en retenant le Crystal violet et peuvent donc être mal identifiées, comme des Cocci à Gram positif. Ce sont des bactéries asporulées, parfois capsulées, souvent groupées en paires mais aussi en chaînes de longueur variable (figure1). Dans la phase exponentielle de croissance, leur diamètre varie typiquement de 0,9 à 1,6 μm et leur longueur de 1,5 à 2,5 μm . Elles deviennent plus coccoides dans la phase stationnaire (Doughari et al., 2011 ; Jung et Park 2015).

Bien que ces bactéries soient généralement considérées comme immobiles, une mobilité de type « mouvement par tremblement » ou « twitching motility » a été remarquée notamment sur des supports semi-solides (Roca et al ; 2012).

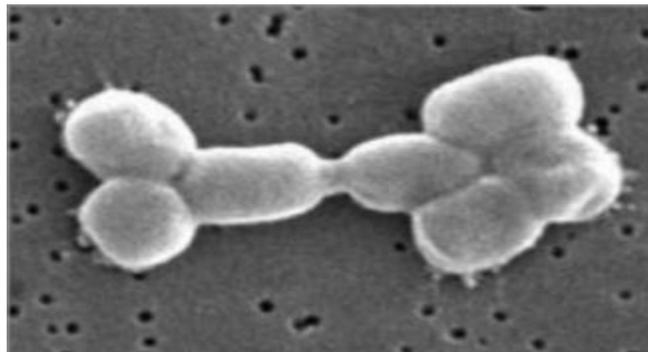


Figure1 : La morphologie d'*A.baumannii* sous microscopie électronique à balayage.

(Chatane,2017)

5-2 Caractères cultureux :

A. baumannii est un aérobie strict, pousse sur les milieux usuels (gélose au sang, gélose Mac conkey, Hektoen), à une température d'incubation de 44° C (critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces qui poussent à 37°C) en formant des colonies arrondies de 1 à 3 mm de diamètre, convexes, ayant un aspect lisse, parfois mucoïde, à contours réguliers (Hidri,2012).

Les souches capsulées d'*A.baumannii* forment sur la boîte des colonies muqueuses de couleur blanche-grise (elles sont dites « Smooth » ou lisses), alors que les souches non capsulées présenteront des colonies non muqueuses, d'aspect rugueux, de couleur blanche grise et de taille plus petite (elles sont dites « Rough » ou rugueuses) (figure 2).



Figure 2 : Cultures des souches d'*A. baumannii* sur gélose Trypticase soja, à gauche : des colonies « smooths » ou lisses, à droite : des colonies « rough » ou rugueuses (Hidri,2012)

5-3 Caractères biochimiques :

Les *Acinetobacters* sont des bactéries présentant des réactions de catalase positive et d'oxydase négative, et n'ont pas la capacité de métaboliser les sucres par les voies fermentaires. (KurcikTrajkovska, 2010 ; Vanechoutte et *al.*, 2011).

Par ailleurs, la majorité des tests biochimiques utilisés habituellement en bactériologie clinique sont négatifs :

- La production d'Indole.
- Réduction des nitrates en nitrites.
- La lysine décarboxylase (LDC).
- L'ornithine décarboxylase (ODC).
- Production d'hydrogène sulfuré (H₂S). Bêta-galactosidase et DNase.
- Les tests de l'uréase.
- L'hydrolyse de la gélatine ou la phénylalanine désaminase (PAD) donnent quant à eux des réponses variables (**Hawkey et Bergogne-Berezin, 2006 ; Doughari et al., 2011**).

6/Virulence et pouvoir pathogène :

De multiples études indiquent qu'*A. baumannii* a intrinsèquement plus de potentiel de virulence humaine que d'autres *Acinetobacter*, dont *Acinetobacter spp*, *A. calcoaceticus*, *A. lwoffii*, *A. junii*, *A. baylyi* et *A. haemolyticus*. (**Tayabali et al., 2012**). Les nouvelles avancées en génétique et en biologie moléculaire ont facilité notre compréhension de la physiologie de base et des facteurs de virulence des *Acinetobacter* (**Jacobs et al., 2014 ; Biswas, 2015**).

De nombreux chercheurs ont créé des bibliothèques de mutants transposons dans le but de mieux comprendre les phénotypes de virulence d'*Acinetobacter baumannii*. Ces bibliothèques ont utilisé le séquençage d'insertion de transposons (TnSeq) pour tenter d'identifier les déterminants potentiels de la virulence (**Wang et al., 2014 ; Gallagher et al., 2015 ; Gebhardt et al., 2015**).

Divers facteurs de virulence bactérienne jouent un rôle important dans la pathogenèse des infections à *Acinetobacter* ont été mis en évidence par plusieurs recherches (**Mikrobiyol Bul, 2011**).

Parmi ces facteurs de virulence :

- La formation d'un biofilm.

- Les mécanismes d'adhérence.
- Les caractéristiques d'acquisition du fer.
- Les activités de la phospholipase de la membrane polysaccharidique et des protéines de la membrane externe OmpA.
- L'altération des protéines de liaison à la pénicilline et les vésicules de la membrane externe. (Schweppe, 2015).

7/Biofilm chez *Acinetobacters* :

Les biofilms microbiens, qui sont des communautés enfermées dans une matrice extracellulaire, sont produits par de nombreuses bactéries, sinon toutes. Les biofilms sont susceptibles d'avoir un rôle important dans les interactions d'*A. baumannii* avec son hôte, et la formation de biofilms contribue aux infections associées aux dispositifs médicaux. L'observation directe des biofilms par microscopie, ainsi que les nombreuses études génétiques réalisées sur les biofilms, ont conduit à un modèle de développement en 05 étapes (figure 3) (Cheng *et al.*, 2019)

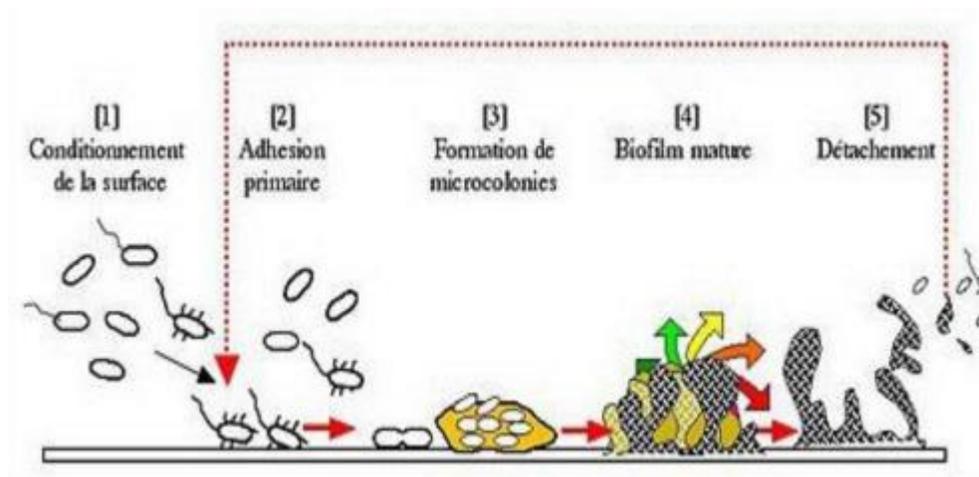


Figure 3 : Les étapes de la formation de biofilm (Chatane, 2017)

Les populations d'*A. baumannii* au sein des infections de la peau et des tissus mous forment des biofilms robustes, à la fois dans la plaie et sur les pansements occlusifs (Thompson *et al.*, 2014).

Cette bactérie forme également des communautés de biofilms sur la plupart des surfaces abiotiques ; y compris les équipements associés aux soins de santé tels que les sondes endotrachéales ainsi que le polycarbonate et l'acier inoxydable (figure 4). Il est bien considéré que les bactéries au sein des communautés de biofilm, y compris *A. baumannii*, ont une tolérance accrue aux stress extracellulaires (Greene et al., 2016 ; Vadlamudi et al., 2016).



Figure 4 : Micrographies FESEM (grossissement X 5000) d'un biofilm in vitro d'*A. baumannii* formé à la surface d'une lamelle de verre après 24h d'incubation à 37°C dans un bouillon Luria-Bertani (Francesca Longo et al., 2014).

Des recherches ont prouvé qu'*A. baumannii* peut former des biofilms et ainsi prolonger sa survie sur les dispositifs médicaux (figure 5), tels que les ventilateurs dans les unités de soins intensifs (USI) (Pakharukova et al., 2018). Cependant, la relation entre la formation de biofilm et la résistance aux antibiotiques reste encore incertaine (Krzyściak et al., 2017 ; Yang et al., 2019).

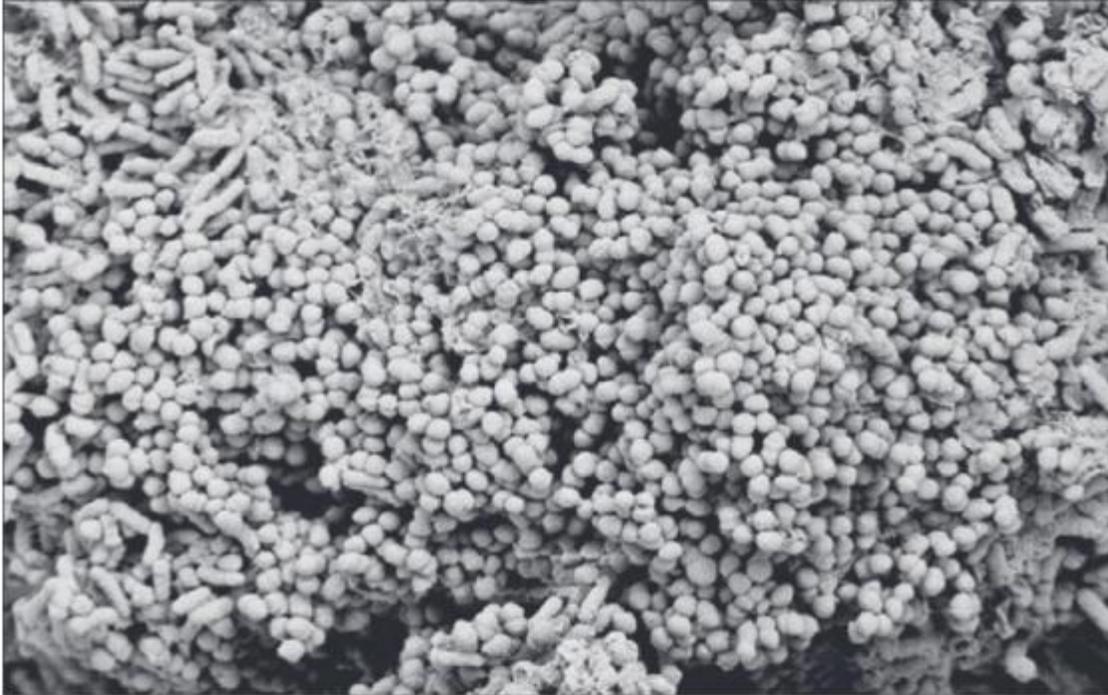


Figure 5 : Micrographies FESEM (grossissement X 10 000) d'un biofilm polymicrobien cultivé dans la lumière d'une sonde urinaire (Longo *et al.*, 2014).

Les biofilms interviennent également dans les interactions agent pathogène-hôte chez *A. baumannii*. La plupart des *A. baumannii* ont un système chaperon/usher pilus, connu sous le nom de Csu pili, régulé par le système BfmRS à deux composants (TC), un réseau de molécules qui influence l'expression des gènes et permet de construire une capsule protectrice en réponse aux antibiotiques. Le système médie également la formation de pili pour faciliter l'attachement cellulaire (Greene *et al.*, 2016). Un autre système TC, GacSA, peut affecter l'expression du gène Csu et peut donc avoir une influence indirecte sur la capacité de l'agent pathogène à produire des biofilms (Tomaras *et al.*, 2008). *A. baumannii* est « caractérisé par la production de protéines associées au biofilm (BapAb) similaires à la protéine Bap de *Staphylococcus aureus*, et qui ont la capacité de s'agréger pour constituer une matrice de biofilm en réponse à des conditions environnementales stressantes (figure 6) (Loehfelm *et al.*, 2008).

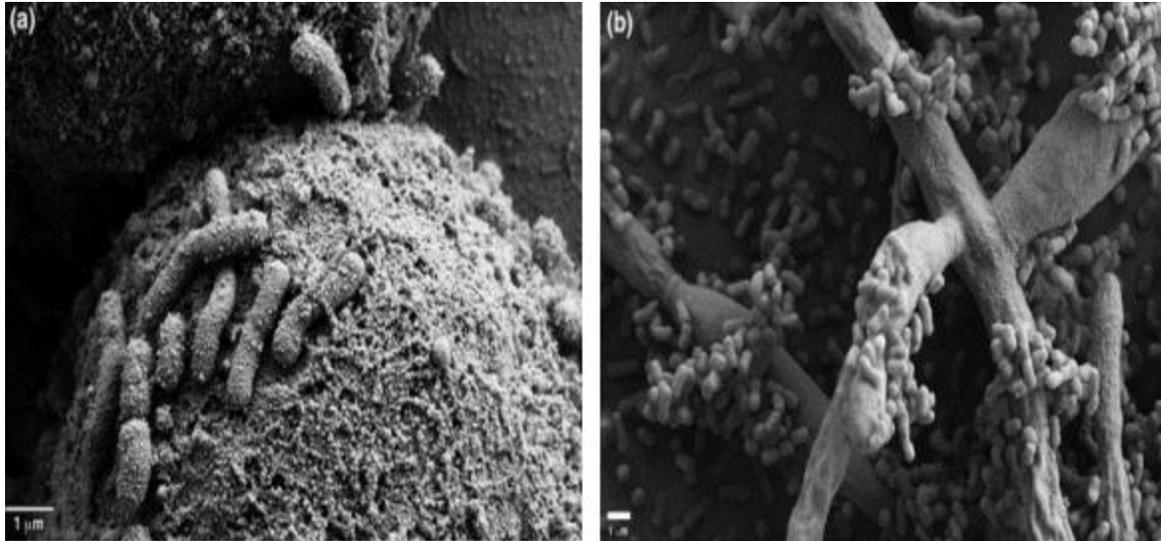


Figure 6 : Microscopie électronique à balayage montrant l'adhésion d'*A.baumannii* sur les surfaces biotiques, (a) de cellules d'*Acinetobacter baumannii* attachées à la surface d'une cellule épithéliale humaine alvéolaire. (b) cellules d'*Acinetobacter baumannii* attachées à la surface de filaments de *Candida albicans* (McConnell et al., 2013).

8/Support génétique d'*Acinetobacters* :

Comme le nombre d'infections à *A. baumannii* a intensifié, il était immédiatement clair que les isolats présentaient une différence remarquable dans la résistance aux antibiotiques. Par conséquent, plusieurs enquêtes se sont concentrées sur les caractérisations génotypiques et phénotypiques d'*A. baumannii* isolé en raison du taux mondial élevé d'infections et de la rareté des options thérapeutiques pour les souches MDR (multirésistances) (Bartual et al., 2005 ; Diancourt et al., 2010).

Les différences génétiques considérables reflètent la plasticité élevée du génome d'*A. baumannii* qui permet l'acquisition d'informations génétiques exogènes, principalement via le transfert horizontal de gènes et la recombinaison allylique à des points chauds spécifiques, ainsi que la perte de gènes inutiles (Antunes et al., 2014 ; Touchon et al., 2014 ; Galac et al., 2020).

Donc *A. baumannii* isolée présentent un degré élevé de diversité génétique pour mieux s'adapter à de nouvelles niches écologiques ; le mode de vie bactérien environnemental ou pathogène entraîne des différences génétiques, compte tenu des souches environnementales principalement isolées dans les hôpitaux (c'est-à-dire des surfaces inertes) et des souches pathogènes associées à l'hôte humain. Pour mieux comprendre l'adaptation d'*A. baumannii* à des niches spécifiques, la plupart des études se sont concentrées sur son pangéome. (**Antunes et al., 2014 ; Touchon et al., 2014 ; Galac et al., 2020**).

Un travail récent a estimé qu'*A. baumannii* core-géome se compose d'environ 2200 gènes, tandis que le pangéome est considérablement plus grand abritant plus de 19 000 gènes différents (**Mangas et al., 2019**). En analysant l'ensemble partagé de gènes parmi 2467 génomes, ces auteurs ont distingué deux principaux groupes :

Le premier groupe : représentant 34% des isolats qui portent rarement des plasmides et se caractérisent par des gènes de répétition palindromique courte régulièrement espacés (CRISPR), associés à CRISPR (cas) ou système de restriction-modification (rms) et des systèmes procaryotes toxine-antitoxine (TAS) (**Mangas et al., 2019**). Les TAS sont des facteurs de virulence importants dans des conditions environnementales stressantes car ils sont impliqués dans le métabolisme cellulaire, les activités de croissance telles que le processus du cycle cellulaire (**Ghafourian et al., 2014 ; Lobato-Márquez et al., 2016**).

Le deuxième groupe : représentant la majorité des isolats (66%), qui partageaient un nombre plus élevé de gènes, annotés comme des gènes plasmidiques avec une activité exonucléase alors qu'un contenu limité de gènes impliqués dans la formation de biofilm a été trouvé (**Mangas et al., 2019**).

Il a été récemment suggéré que la présence de systèmes CRISPR/Cas réduisait le taux d'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques, Donc il est négativement associé à *A. baumannii* isolé (**Tyumentseva et al., 2021**).

Par conséquent, les souches environnementales sont caractérisées par la présence de systèmes CRISPR/Cas qui influencent positivement la production de biofilms pour améliorer la persistance et inhiber l'acquisition d'ADN étranger, y compris les gènes de résistance aux antibiotiques. Vice versa, les souches associées à l'homme perdent les systèmes CRISPR/Cas pour évoluer plus facilement en souches MDR (Yakkala et al., 2019).

9/La résistance aux antibiotiques :

9/1 Résistance naturelle d'*Acinetobacter* :

C'est une résistance intrinsèque, commune à une population, due essentiellement à la présence de gènes spécifiques (Allen et al., 2010). Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite en répondant à un signal enzymatique établi par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (Doyle,2006).

Les souches d'*Acinetobacter* produisent une bêta-lactamase chromosomique, très probablement de classe C, qui n'est pas inhibée par le clavulanate, qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération mais n'a pas d'activité pour les pénicillines et la pipéracilline. De ce fait, *Acinetobacter* est naturellement résistant à la céphalotine alors que la ticarcilline est active (figure 7) (Perilli ,1996).

FOS	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
CFS	CAZ	ATM	CIP

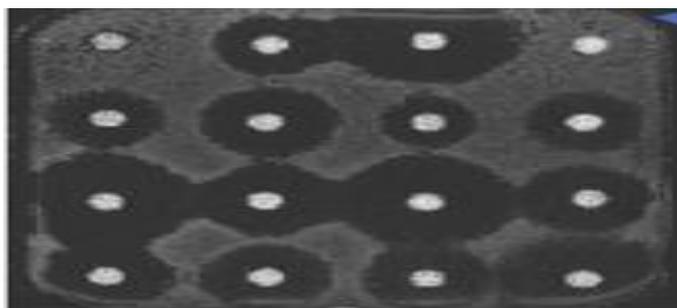


Figure 7 : Résistance à la céphalotine (Perilli , 1996)

9-2 Résistance acquise d'*Acinetobacter* :

Elle est due à des modifications dans le profil d'expression génique via des mutations ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus, les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (Springman et al., 2009).

La résistance aux bêta-lactamines chez *Acinetobacter* est complexe et pose souvent de sérieux problèmes car elle résulte fréquemment de la production simultanée d'enzymes différentes (figure 8). Des souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes à la plupart des bêta-lactamines (sauf à la ceftazidime et à l'imipénème) ont été caractérisées. Elles produisaient 3 bêta-lactamases différentes : une céphalosporinase chromosomique, une bêta-lactamase TEM-1 et une enzyme de type OXA appelée OXA-21 et portée par un intégron (Vahaboglu, 1997).

FOS	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
CFS	CAZ	ATM	CIP

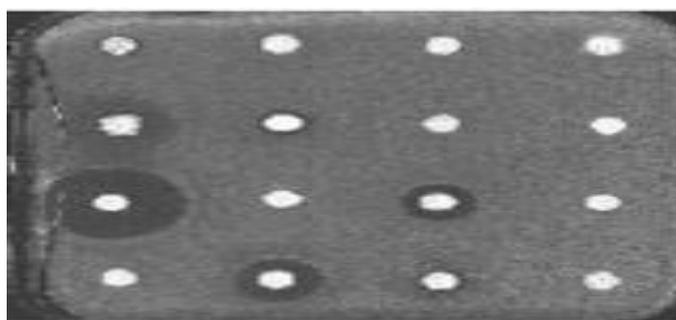


Figure 8 : Résistance aux bêtalactamines (Vahaboglu, 1997)

9-3 Définition de l'antibiotique :

Les « Antibiotiques » sont définis comme toute substance naturelle d'origine biologique, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique ayant la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte (Allag, 2018).

9-4 Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques sont utilisés en médecine pour lutter contre des infections bactériennes et doivent être choisis en fonction de leur efficacité sur la bactérie responsable de l'infection. Il en existe de très nombreux, répartis en différentes familles. Ils sont très efficaces contre les infections bactériennes, mais n'ont aucun effet sur les infections virales. Ces molécules ont la propriété de tuer les bactéries (antibiotiques bactéricides) ou d'en limiter la multiplication (antibiotiques bactériostatiques). Le mode d'action des antibiotiques dépend des cibles moléculaires qui peuvent se trouver dans la paroi ou le cytoplasme (figure 9) (Lesseur , 2014).

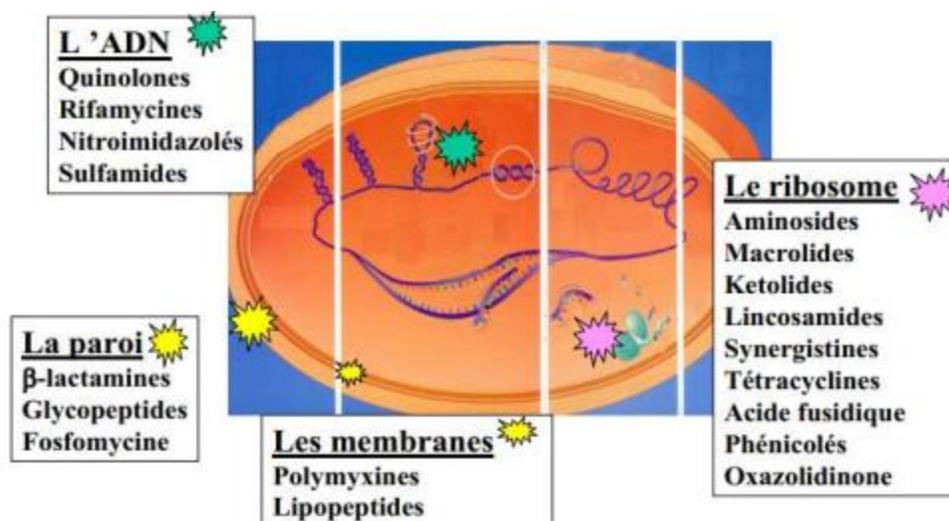


Figure 9 : Mécanisme d'action des différents antibiotiques (Archambaud, 2009)

Le développement de nouveaux antibiotiques vise essentiellement les bactéries regroupées sous l'acronyme ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.*). Ces bactéries sont en effet caractérisées par la fréquence de l'antibiorésistance ainsi que leur relative fréquence en clinique, en particulier en milieu hospitalier (Anne-Claire, 2020).

9-5 La résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacters* :

Le principal défi du traitement des infections à *Acinetobacter* consiste à vaincre la résistance aux antibiotiques (tableau 1). Malheureusement cette dernière est l'un des pathogènes les plus résistants rencontrés en médecine clinique, ce qui rend difficile l'instauration d'un traitement empirique efficace. *Acinetobacter* est l'une des nombreuses espèces Gram-négatives qui présentent couramment un phénotype (XDR), défini comme une résistance à tous les antibiotiques systémiques disponibles, à l'exception de ceux qui sont connus pour être moins efficaces ou plus toxiques que les agents de première ligne utilisés pour traiter les pathogènes sensibles (IDSA, 2012).

A. baumannii résistant aux médicaments (XDR) est un isolat résistant à trois classes ou plus d'antimicrobiens (pénicillines et céphalosporines, y compris les combinaisons d'inhibiteurs, les fluoroquinolones et les aminosides, résistants aux carbapénèmes dans la plupart des cas) (Mulani et al., 2019 ; Karakonstantis et al., 2020).

Les carbapénèmes sont le traitement le plus utilisé pour la gestion des infections causées par les bactéries Gram négatif résistants aux antibiotiques. Cependant, au cours des vingt dernières années, la résistance aux carbapénèmes est en augmentation, ce qui rend le traitement pratiquement inefficace (Adams-Haduch et al., 2008 ; Da Silva et al., 2016). Les polymyxines sont maintenant largement utilisées comme antibiotiques de choix pour les infections à *A. baumannii* multirésistant, bien qu'elles aient été initialement évitées en raison de toxicités systémiques (néphrotoxicité et neurotoxicité) (Garnacho-Montero et al., 2019 ; Piperaki et al., 2019).

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques peuvent être classés en trois groupes (figure 10) :

- Premièrement, la résistance peut être obtenue en réduisant la perméabilité membranaire ou en augmentant l'efflux de l'antibiotique et en empêchant ainsi l'accès à la cible.
- Deuxièmement, les bactéries peuvent protéger la cible antibiotique par mutation génétique ou modification post-traductionnelle
- Enfin, les antibiotiques peuvent être directement inactivés par hydrolyse ou modification (Blair et al., 2015).

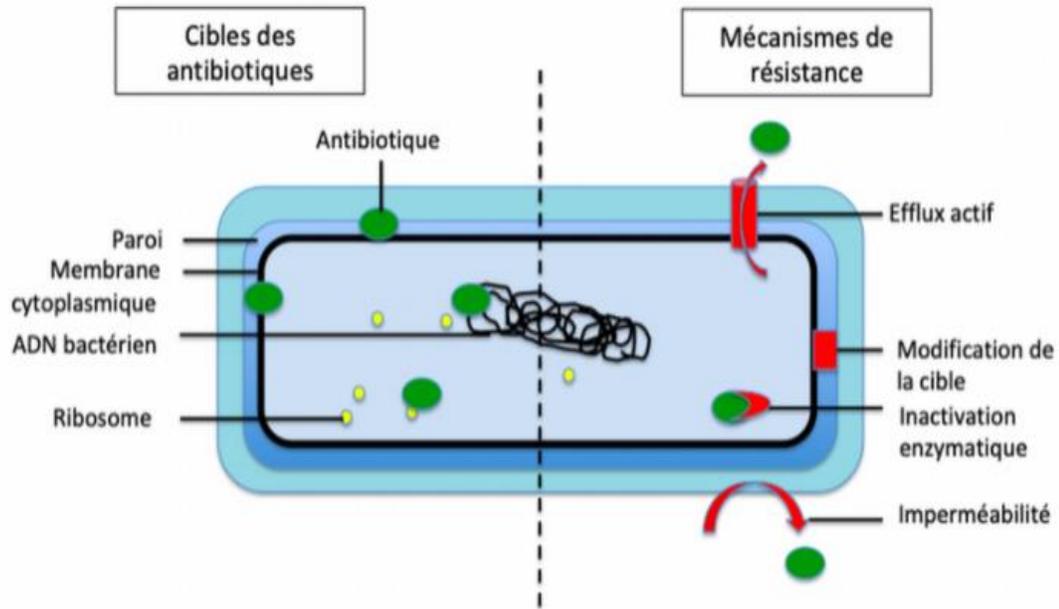


Figure 10 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (Emilie et al 2019)

L'une des armes les plus importantes de l'arsenal d'*Acinetobacter* est son impressionnante plasticité génétique, facilitant des mutations et des réarrangements génétiques rapides ainsi que l'intégration de déterminants étrangers portés par des éléments génétiques mobiles (Moubareck et al., 2020 ; Vrancianu et al., 2020).

Parmi celles-ci, les séquences d'insertion sont considérées comme l'une des forces clés qui façonnent les génomes bactériens et finalement l'évolution (Moubareck et al., 2020 ; Vrancianu et al., 2020).

Une interaction entre la faible perméabilité aux antimicrobiens et l'efflux constitutif permet une résistance inhérente aux antimicrobiens. Ce qui entraîne des options thérapeutiques limitées. En outre, *Acinetobacter* possède un îlot de résistance massif au sein de son génome, qui est composé de 45 gènes de résistance. De plus, il a :

- La capacité d'acquérir rapidement d'autres entités génétiques de résistance provenant d'autres espèces bactériennes (Adams et al ; 2008 ; Blackwell et al., 2016).
- La capacité de développer une résistance aux antibiotiques au milieu d'un traitement (Cheng et al., 2015).

Tableau 1 : Mécanismes d'actions et de résistances des antibiotiques chez *A. baumannii*

<u>Classes</u> <u>d'antibiotiques</u>	<u>Mécanismes</u> <u>d'action</u>	<u>Mécanismes de</u> <u>résistances</u>	<u>Références</u>
Carbapénèmes	Les carbapénèmes exercent leur activité en se liant aux protéines de liaison des pénicillines (PLP).	<p>L'émergence des carbapénèmes-hydrolyses de classe D d'Ambler β-lactamases.</p> <p>La présence d'une famille d'enzymes chromosomiques typiquement présentes dans <i>A. baumannii</i>.</p> <p>L'expression de gènes codant pour les carbapénemases de classe D. nécessitant le promoteur ISAbal.</p> <p>La présence de blaOXA-23 gènes codant pour la carbapénemase, ainsi que la coexistence de blaOXA-24.</p> <p>Métallo-β-lactamases ou MBL le mécanisme de résistance acquis localisé soit chromosomiquement,</p>	<p>(Livermore,2002)</p> <p>(Heritier et al.,2005)</p> <p>(Turton et al. ,2006)</p> <p>(Dalla-Costa et al.,2003)</p> <p>(Nordmann, 2002)</p>

		soit dans les plasmides.	
Fluoroquinolones	Inhibition de l'action de la topoisomérase II en bloquant l'expression génétique	Des mutations dans la région déterminant la résistance aux quinolones (QRDR) des gènes <i>gyr A</i> et / ou par <i>C</i> codant respectivement pour les sous-unités A de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV. Des altérations des systèmes d'influx et d'efflux de médicaments codés chromosomiquement, conduisant à l'extrusion de médicaments actifs.	(Ribera et al., 2004) (Vila et al., (1995) (Sheng et al., 2009) (Jain,2004) (Sheng et al., 2009)

Aminosides	Action sur l'ARN 16 s de la petite sous unité 30 s du ribosome exactement dans le site A, donc inhibition de la traduction	<p>La modification des groupes hydroxyle ou amino de l'antibiotique par la production d'enzymes modifiant les aminosides telles que les aminoside acétyltransférases (AAC), les aminoside nucléotidyltransférases (ANAD) / ou les aminoside phosphotransférases (APH).</p>	<p>(Lin et <i>al.</i>,2010)</p> <p>(Bonomo et Szabo ,2006)</p> <p>(Ambert et <i>al.</i>,1993)</p> <p>(Doi et <i>al.</i>,2004)</p>
		<p>La produisaient des enzymes modifiant les aminosides, le plus souvent AAC (3) -I et ANT (3'') -I.</p>	<p>(Seward et <i>al.</i>,1998)</p>
		<p>Les gènes de l'ARNr 16S méthyltransférase (16S-RMTase) acquis de manière exogène, responsables d'un très haut niveau de résistance contre divers aminosides.</p>	<p>(Wachino, Arakawa, 2012)</p>

<p>Bêta-lactamines</p>	<p>Inhibition de la synthèse du peptidoglycane composant essentiel de la paroi bactérienne</p>	<p>La production de β-lactamases codées par le chromosome ou par des plasmides, ainsi que la modification des protéines de liaison à la pénicilline et la diminution de la perméabilité de la membrane externe.</p> <p>La présence d'une céphalosporinase chromosomique intrinsèque (AmpC)</p> <p>La présence des enzymes ADC qui sont des β-lactamases de classe C responsables de la résistance aux pénicillines, aux céphalosporines et aux combinaisons d'inhibiteurs de β-lactame – β-lactamase.</p> <p>L'existence des enzymes KPC.</p>	<p>(Jain, 2004)</p> <p>(Lee et al., 2007)</p> <p>(Beceiro et al., 2004)</p> <p>(Bou, 2000)</p> <p>(Drawz et al., 2010)</p> <p>(Sacha et al., 2009)</p>
-------------------------------	--	---	--

<p>La colistine</p>	<p>Interagit avec le composant lipide A du lipopolysaccharide de la membrane externe (LPS), entraînant sa perturbation et provoquant ainsi la mort cellulaire</p>	<p>Modification de la membrane externe du lipopolysaccharide par addition de phosphoéthanolamine à la structure du lipide A hepta-acylé.</p> <p>La perte complète du LPS.</p>	<p>(Nation, Turnidge et al.,2006)</p> <p>(Pelletier et al., 2013)</p> <p>(Arroyo et al.,2011)</p> <p>(Beceiro et al.,2011)</p> <p>(Moffatt et al.,2011)</p>
----------------------------	---	---	---

10/ Interaction hôte-*Acinetobacter* : l'épithélium respiratoire

Les études sur la virulence d'*A. baumannii* se sont multipliées en raison de l'augmentation inquiétante du nombre d'isolats résistants aux antibiotiques. En raison de la prévalence élevée de la pneumonie associée à la ventilation, la plupart des recherches se sont concentrées sur des modèles pulmonaires in vitro et in vivo (**Harding et al., 2018 ; Geisinge et al., 2019 ; Morris et al., 2019 ; Pire et al., 2019**).

La muqueuse respiratoire comprend l'épithélium, la lame basale et la lamina propria ; ces deux derniers représentent la matrice extracellulaire (MEC) et fournissent un support structural et biochimique aux cellules environnantes. La MEC est composée d'un grand nombre de protéines différentes, notamment le collagène, l'élastine, la fibrilline, la laminine, la fibronectine et la vitronectine (**Burgstaller et al., 2017**). Les récepteurs exprimés par les cellules alvéolaires ainsi que les protéines MEC représentent des surfaces adhésives pour les adhésines bactériennes ; ces surfaces permettent l'établissement d'un contact physique entre les cellules hôtes et les bactéries pathogènes telles qu'*A. baumannii* (**Morris et al., 2019**).

La première preuve qu'*A. baumannii* peut adhérer aux cellules épithéliales de l'hôte et les envahir a été fournie par **Choi et al.**, en (2008). En utilisant des tests in vitro, il a été montré qu'*A. baumannii* est internalisé par un mécanisme semblable à une fermeture éclair qui implique un récepteur cellulaire ; une fois internalisées, les cellules bactériennes résident dans des vacuoles liées à la membrane (figure 11) (**Choi et al., 2008**).

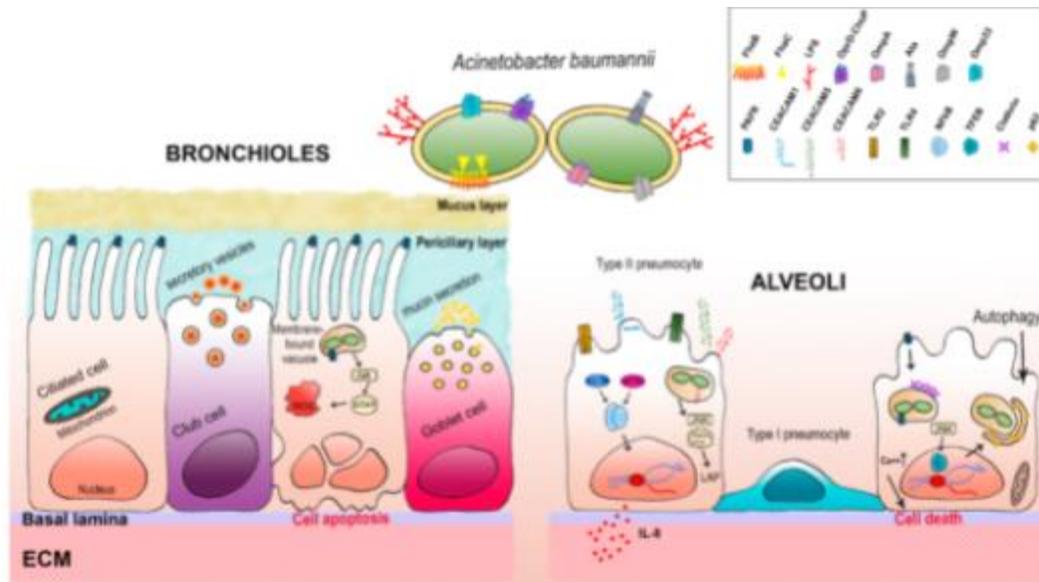


Figure 11 : Représentation schématique des interrelations entre *A. baumannii* et l'épithélium respiratoire. (Zhanget *al.*, 2018)

A. baumannii possède plusieurs facteurs de virulence qui permettent à la bactérie d'adhérer et d'envahir les cellules hôtes. Les principales protéines impliquées dans l'interaction avec les cellules hôtes et les protéines hôtes extracellulaires sont OmpA, Omp33, OmpW, Ata et FhaB. Les cellules d'*A. baumannii* sont internalisées via un mécanisme de fermeture à glissière et résident et survivent dans des vacuoles liées à la membrane. Les cellules épithéliales bronchiques répondent aux infections à *A. baumannii* en provoquant la voie Jak-STAT ainsi que la réponse au stress oxydatif intracellulaire qui conduit finalement à l'apoptose (Zhanget *al.*, 2018).

11/Interaction d'*A. baumannii* avec le système immunitaire de l'hôte :

Le système immunitaire inné est connu pour être la première ligne de défense contre les bactéries. Les phagocytes, tels que les neutrophiles, les macrophages, les mastocytes, les cellules tueuses naturelles (NK) et les cellules dendritiques (CD) sont les principaux réponders de ce système (Behzad et *al.*, 2016 ; Morris et *al.*, 2019 ; Luo et *al.*, 2020).

Avec les cellules épithéliales, ces cellules immunitaires innées expriment deux groupes de récepteurs de reconnaissance de formes (PRR), les TLR et les récepteurs du domaine d'oligomérisation de liaison aux nucléotides (NOD), tous deux impliqués dans la reconnaissance d'*A.baumannii*. Ces récepteurs reconnaissent spécifiquement les composants PAMP (c'est-à-dire LOS, OMV, capsule) et les modèles moléculaires associés aux dommages (DAMP) qui sont libérés lors de l'infection à partir de tissus endommagés ou de cellules hôtes blessées (Li et al., 2019 ; Chen, 2020). Comme décrit précédemment, les TLR ont un rôle important dans l'induction de différentes voies de signalisation TLR contre *A. baumannii*. Une représentation schématique de la réponse immunitaire innée aux infections à *A. baumannii* est fournie dans (la figure 12) (Morris et al., 2019 ; Chen, 2020).

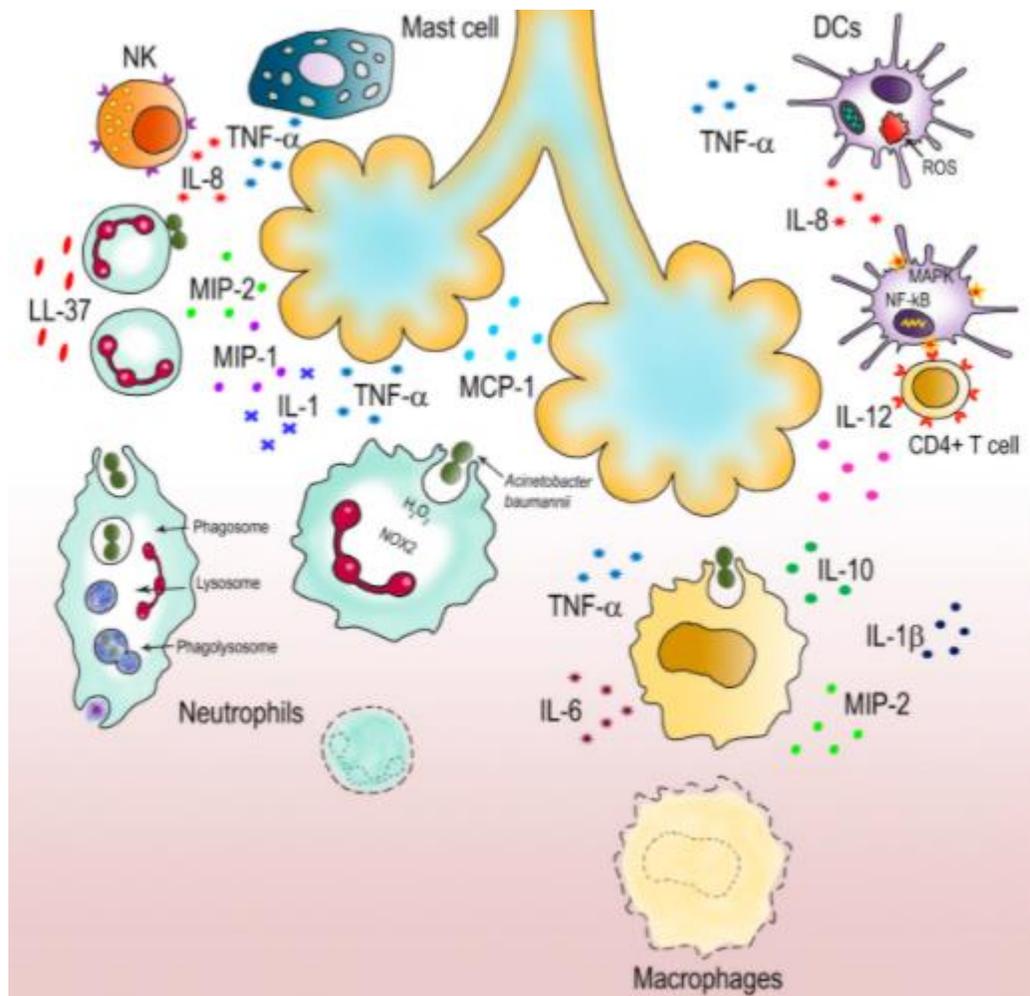


Figure 12 : Réponses immunitaires innées à *A. baumannii* dans l'épithélium respiratoire (Kamoshida et al., 2016)

Les neutrophiles, les macrophages, les mastocytes, les cellules NK et DC sont impliqués dans la clairance des infections à *A. baumannii*. Les neutrophiles sont la principale défense contre les infections à *A. baumannii* (**Kamoshida et al., 2016**). Les neutrophiles sont représentés au cours de la phagocytose et de l'élimination des agents pathogènes. Le recrutement massif de neutrophiles est obtenu par la sécrétion de peptides antimicrobiens ainsi que de cytokines et de chimiokines chimiotactiques, y compris l'interleukine-1 (IL-1), la protéine inflammatoire des macrophages-1 (MIP-1), MIP-2, la protéine chimiotactique des monocytes-1 (MCP-1), facteur de nécrose tumorale (TNF- α) (**Morris et al., 2019 ; Pires et Parker, 2019 ; Chenet et al., 2020**). Cependant, *A. baumannii* a développé plusieurs stratégies pour échapper aux activités de destruction des neutrophiles. L'invasion d'*A. baumannii* peut inhiber la production de TNE ; de plus, les bactéries peuvent adhérer aux neutrophiles activés par l'IL-8 et les utiliser comme transporteurs in vitro (**Kamoshida et al., 2016 ; Kamoshid et al., 2018**).

De plus, *A. baumannii* phagocyté peut s'opposer aux effets destructeurs des ROS produits par les neutrophiles en régulant à la hausse les composés de résistance bactérienne (**Juttukonda et al., 2020**). Tout en phagocytant un nombre important de cellules d'*A. baumannii*, les macrophages libèrent des cytokines et des chimiokines pro-inflammatoires, telles qu'IL-6, IL-10, IL-1 β , MIP-2 et TNF- α , afin de recruter des neutrophiles au site d'infection. (**Morris et al., 2019 ; Chen et al., 2020**). Les CD rejoignent le système immunitaire inné dans le système immunitaire adaptatif en produisant de l'IL-12 pour induire des réponses immunitaires des lymphocytes T CD4⁺ Th1 (**Chen et al., 2020**). Bien que *A. baumannii* OmpA puisse activer les cellules dendritiques (DC), il induit la mort des DC via le ciblage mitochondrial et la production de ROS, altérant ainsi les réponses immunitaires adaptatives (**Chenet et al., 2020**). Il semble que le rôle principal de la kinase N-terminale (NK) et des mastocytes contre *A. baumannii* soit de produire des chimio-attracteurs des neutrophiles, tels que l'IL-8 et le TNF- α (**Morris et al., 2019 ; Chenet et al., 2020**).

12/SARS-CoV-2 et infections à *A. baumannii* (co-infections) :

Pendant la pandémie de COVID-19, la co-infection avec *A. baumannii* secondaire aux infections par le SARS-CoV-2 a été rapportée à plusieurs reprises dans la littérature. Un isolat avec OXA-23 a été responsable d'une épidémie dans les unités de soins intensifs COVID-19 d'un hôpital tertiaire japonais (**Duployez et al., 2020**).

L'incidence des infections secondaires (principalement des infections des voies respiratoires inférieures) attribuées à *A. baumannii* a été signalée comme pouvant atteindre 1% des patients COVID-19 hospitalisés dans un hôpital italien (**Ripa et al., 2021**). La même incidence (1%) a été rapportée par une étude précoce chez des patients hospitalisés de Wuhan, en Chine (**Chen et al., 2021**).

Les stéroïdes et les longs séjours en soins intensifs, mais pas les infections MDR, ont été associés à une mortalité plus élevée dans une analyse rétrospective italienne de 32 patients COVID-19 en soins intensifs. Dans cette dernière cohorte, quatre patients (12,5%) ont été co-infectés par *A. baumannii* multirésistant (**Karruli et al., 2021**).

Une étude d'une unité de soins intensifs iranienne a signalé une co-infection avec *A. baumannii* multirésistant chez 17 des 19 patients COVID-19 (89,5% ; aucune souche productrice de MBL ; 52 % de taux de résistance à la colistine), alors que tous ces patients sont décédés (**Sharifipour et al., 2020**).

Matériel et Méthodes

- **Antibiogramme : technique de diffusion sur milieu gélosé avec mesure des diamètres**
- **CMI : milieu gélosé E-test**
- **Automates (Vitek) : milieu liquide**

Article 1 : International Journal of antimicrobial agents (titre de l'article)

1/ Technique de diffusion sur milieu gélosé :

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été effectués selon les directives du *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Des disques de 10 µg ont été utilisés pour la méthode de diffusion en milieu gélosé (**National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1981**).

Une suspension d'*A. baumannii* équivalente à 0,5 é McFarland a été ensemencée par écouvillonnage sur gélose Mueller Hinton, les disques d'antibiotiques ont été placés sur la surface des boîtes et incubés à 37°C pendant 18-24 heures. Les critères d'interprétation du diamètre de la zone pour les souches sensibles intermédiaires et résistantes ont été établis et enregistrés conformément aux directives du CLSI, 2012. En vue de s'assurer de la qualité de la technique de sensibilité aux antibiotiques. Des souches de référence ont été utilisées : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). (**Magiorakos et al., 2012**).

2/ Technique 2 : E-test :

Il s'agit d'une technique de diffusion en milieu gélosé permettant de donner une mesure précise de la concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI). Cette technique introduite dans les années 1990 s'est révélée rapidement très utile en pratique de routine de laboratoire. Techniquement, l'antibiotique est contenu dans un espace limité à une extrémité de la bandelette (figure 13).

Une collection d'*A. baumannii* bien caractérisée et multirésistante, obtenus à partir d'échantillons cliniques de patients infectés ou colonisés ont été utilisés pour comparer la sensibilité à la colistine. Leurs conclusions ont mis en évidence la nécessité de tests confirmatifs de sensibilité à la colistine par la méthode de microdilution en bouillon, surtout dans le cas des CMI limites, de plus en plus fréquentes chez *A. baumannii* résistant, afin d'assurer une approche thérapeutique cohérente (Joly-Guillou, 2006).

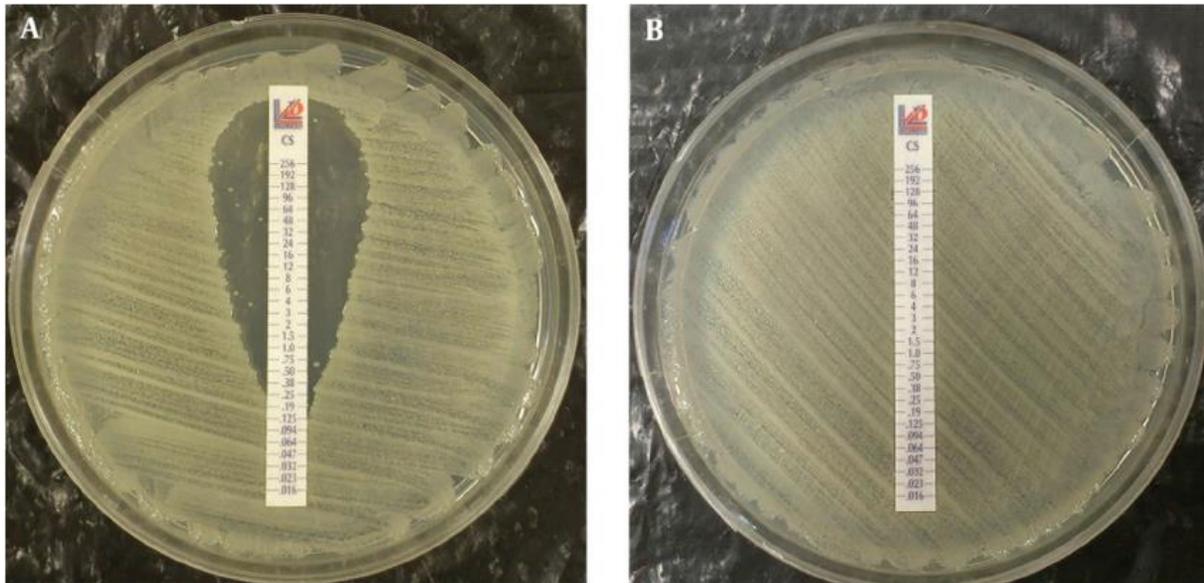


Figure 13 : Résultat du Colistine E-test pour deux isolats d'*A. baumannii* (Mojtaba Moosavian et al., 2014)

3/ Teste de sensibilités aux antibiotiques (par système vitek) :

Cette technique est utilisée pour obtenir rapidement des résultats précis (CMI) pour les tests de sensibilité aux antibiotiques, pour la détection de la résistance des bactéries et des levures cliniquement pertinentes à l'aide des cartes jetables et unitaires, destinées à être utilisées avec les instruments VITEK®2. Cette technique présente des avantages tels que :

- Détection rapide pour un diagnostic précis et la mise en place d'un traitement efficace.
- Code-barres pré-appliqués pour une traçabilité optimale.
- Système scellé : cartes sécurisées, jetables et prêtes à l'emploi.
- Réduction du volume de déchets nocifs pour la santé (**Barenfanger et al., 1999**).

Au cours de la période d'observation de février à juillet 2017, 51 isolats consécutifs d'*A.baumannii* ont été obtenus à partir de différents échantillons cliniques de 32 patients. Les tests de sensibilité effectués avec le système Vitek®2 ont révélé que tous les *A. baumannii* isolats ont montré des valeurs de CMI supérieures au seuil de résistance pour dix sur douze des antibiotiques testés (amoxicilline/acide clavulanique ; pipéracilline/tazobactam ; gentamicine ; céfotaxime ; ciprofloxacine ; triméthoprim/sulfaméthoxazole ; imipénem ; méropénème ; ertapénem ; fosfomycine).

De plus, 44 (86,27 %) des isolats étaient résistants à la tigécycline et 6 (11,76 %) étaient également résistants à la colistine, révélant une pharmacorésistance extensive (XDR) (**Magiorakos et al., 2012**).

Les tests de sensibilité aux antibiotiques par Vitek®2 ont montré que 6/51 isolats d'*A. baumannii* étaient résistants à la colistine (CMI ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$).

Un test de diffusion quantitatif parallèle à l'aide de bandelettes réactives CMI a montré que 12/51 isolats étaient résistants à la colistine (CMI ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$), et donc une interprétation discordante entre les deux méthodes a été trouvée chez 8/51 (15,68 %) isolats.

La concordance essentielle (c'est-à-dire le % d'isolats produisant des CMI se situant à ± 1 double dilution) entre Vitek®2 et les bandes de test CMI. (**Bakthavatchalam et al., 2018 ; Vasoo et al., 2019**).

Les tests de sensibilité à la colistine étaient de 54,90 % (28/51 résultats de CMI), ce qui est très inférieur au seuil d'acceptabilité (fixé à 90 %). Afin de déterminer s'il y avait des inexactitudes dans le rapport des valeurs de CMI de la colistine par Vitek®2, lié aux outils utilisés, la sensibilité à la colistine a été pour les 51 isolats d'*A. baumannii* par la méthode de microdilution en bouillon (**Bakthavatchalam et al., 2018; Vasoo et al., 2019**).

Le test de microdilution en bouillon a montré que 12/51 isolats (23,53%) étaient résistants à la colistine. En outre, 11,76% (6/51) des isolats ont montré une discordance entre les valeurs obtenues avec Vitek®2 et la méthode de microdilution.

En comparant les résultats de la sensibilité à la colistine entre les bandelettes E-test réactives et la méthode de microdilution en bouillon, il est apparu que 5,88 % (3/51) des souches ont montré un écart entre les deux techniques avec des valeurs supérieures à deux facteurs de dilution.

Les valeurs de concordance essentielle pour Vitek®2 et les bandes de test CMI pour la colistine étaient de 88,23 % (45/51 résultats CMI) et 66,67 % (34/51 résultats de CMI), donc en dessous du seuil d'acceptabilité dans les deux comparaisons.

Un tracé des valeurs de CMI en fonction de la méthode de test prouve que la résistance à la colistine est largement sous-estimée selon les résultats de Vitek®2. (Figure 14) (**Sacco et al., 2021**).

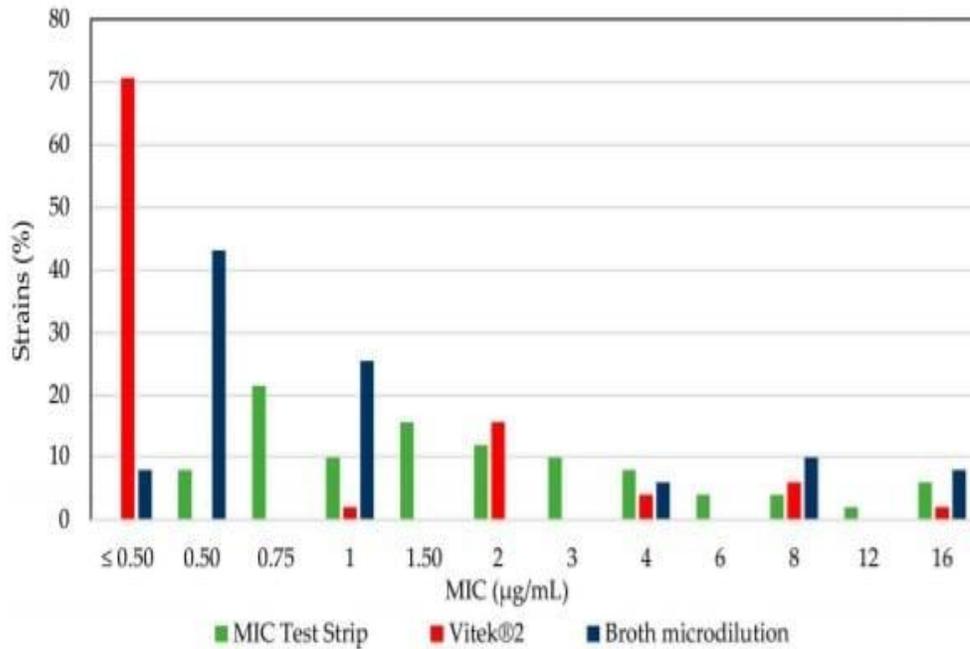


Figure 14 : Pourcentage de souches *d'A. baumannii* sensibles à la colistine à une CMI donnée, déterminée par les bandelettes E-test, Vitek®2, et le test de microdilution. Le seuil de résistance est $\geq 4\mu\text{g/ml}$ (Sacco et *al.*, 2021)

Article 2 : Reliability of the E-Test Method for Detection of Colistin Resistance in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*

Arroyo *et al* en (2005) ont comparé le E -test à la méthode de microdilution en bouillon pour tester la sensibilité de 115 isolats d'*Acinetobacter baumannii* à la colistine. Vingt-deux (19,1%) souches étaient résistantes à la colistine et 93 (80,8 %) des souches étaient sensibles selon la méthode de microdilution en bouillon de référence. Une concordance catégorique de 98,2% a été trouvée, avec seulement deux (1,7%) erreurs très importantes. Les mêmes résultats ont été trouvés pour les souches pour lesquelles les CMI se situaient entre 0,25 et 1 g de colistine/mL. Cependant, il y avait une discordance, en particulier dans les dilutions extrêmes avec des CMI plus élevées réalisées par la méthode E-test.

A. baumannii a été identifié par l'aspect de la coloration de Gram, les caractères cultureux, la mobilité, la réaction de la cytochrome oxydase et la croissance à 44°C, ainsi que par la méthode MicroScan Walk Away semi-automatisée (Dade-Behring). Toutes les souches ont été confirmées comme *A.baumannii* par analyse de restriction génique de l'ARNr ribosomique amplifié (ARDRA) (Vanechoutte *et al.*,1995). Les isolats ont été conservés à -70°C. *Escherichia coli* ATCC 25922 (β -lactamase négative) a été inclus comme souche de contrôle qualité (CQ) dans les deux méthodes de test de sensibilité. (Comité national des normes de laboratoire clinique. 2003)

La poudre de sulfate de colistine a été obtenue auprès de Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo). Le bouillon Mueller-Hinton (BBL-Becton Dickinson) a été conformément utilisé selon les directives du NCCLS comme méthode de référence (**Comité national des normes de laboratoire clinique. 2003**). En bref, des inoculum ont été préparés en suspendant les colonies à partir de boîtes de gélose incubées pendant 24h dans 5 ml de solution saline stérile pour correspondre à la turbidité de 0,5 McFarland standard équivalente à un inoculum final de 5×10^5 UFC/ml. Des concentrations de Colistine allant de 0,015 à 1 024 $\mu\text{g/mL}$ ont été testées en microplaques. La CMI a été définie comme la concentration la plus faible pour laquelle aucune croissance n'était visible après incubation des plaques à 35°C pendant 16 à 20 h.

Les CMI ont été déterminées par la méthode E-test selon les directives du fabricant (AB Biodisk). Une suspension de chaque isolat dans un bouillon Mueller-Hinton, ajusté à la densité de 0,5 McFarland, a étéensemencée dans trois directions pour assurer une croissance uniforme sur des boîtes de gélose Mueller-Hinton.

Une fois la surface de la gélose complètement sèche, une bandelette de colistine E-test (allant de 0,06 à 1 024 $\mu\text{g/mL}$) a été appliquée sur chaque boîte avec des pinces stériles, et les boîtes ont été incubées à 35°C pendant 16 à 20h. La CMI a été lue lorsque l'inhibition de la croissance a croisé la bandelette de E-test. Les deux tests de sensibilité ont été réalisés simultanément. (**Gales et al.,2001**)

Résultats et **D**iscussion

Résultats et discussion :

Les 115 souches assignées par les tests phénotypiques et de croissance comme *A. baumannii* ou *Acinetobacter haemolyticus* ont été identifiées comme *A. baumannii* par la méthode de génotypique ARDRA. Vingt-deux (19,1 %) des 115 souches d'*A. baumannii* étaient résistantes à la colistine, et les 93 souches restantes (80,9 %) étaient sensibles, par la méthode de microdilution en bouillon. Les CMI pour La souche *E. coli* QC se situait dans la gamme des CMI de référence établie (0,125 à 0,5 µg/mL), avec des valeurs de 0,25 (par la méthode de microdilution en bouillon de référence) et de 0,5 µg/mL (par E-test).

Les CMI de colistine auxquelles 50 et 90 % des isolats ont été inhibés étaient respectivement de 0,06 et 32 µg/ml par la méthode de microdilution et de 0,5 et 16 µg/mL, respectivement, par E-test. Une concordance dans la première double dilution entre le E-test et la méthode de microdilution a été de 16,5 % (19 souches sur 115). La plus faible concordance a été trouvée principalement avec des souches dont les CMI allaient de 0,06 à 0,25 µg/mL et de 64 à 1 024 µg/mL par la méthode de référence. Ce fait pourrait être lié à la mauvaise diffusion des polymyxines dans la gélose.

En conclusion, les résultats de la présente étude suggèrent que la méthode E-test pourrait être une alternative fiable et adaptée à la méthode de référence de détection de la résistance à la colistine chez les isolats cliniques d'*A. baumannii* par les laboratoires cliniques. Cependant, une faible concordance a été signalée pour les souches sensibles pour lesquelles les CMI étaient plus faibles et mérite une considération supplémentaire en ce qui concerne la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de la colistine dans le traitement des infections graves.

Conclusion

Le problème de la prise en charge clinique des patients atteints de souches PDR *A. baumannii* pose un certain nombre de questions sur la bonne exécution et l'interprétation des tests de sensibilité à la colistine, en particulier les tests de diffusion sur gélose (par exemple, E-test®, disk-diffusion) et les systèmes automatisés. (par exemple, Vitek® 2). L'instabilité relative du maintien des gradients de concentration de colistine dans les plaques de gélose a soulevé une mise en garde contre l'utilisation de tels systèmes, à la fois manuels et automatisés. En fait, les isolats considérés comme sensibles à l'action de l'antibiotique sont devenus résistants lorsqu'ils ont été testés avec des tests de référence, tels que les méthodes de dilution en bouillon.

La sensibilité à la colistine de tous les isolats de notre collection a été comparée entre les méthodes commerciales largement utilisées, à savoir Vitek® 2 et les bandelettes de test CMI, et la méthode de microdilution en bouillon, considérée comme l'étalon-or. Les données révélées par la comparaison des trois méthodes indiquent une mauvaise concordance entre Vitek®2 ou bandelettes de test CMI et la méthode de microdilution en bouillon (concordance essentielle <90 %). Les valeurs de CMI obtenues par les deux méthodes commerciales étaient discordantes d'env. 10 % par rapport aux valeurs CMI obtenues par la microdilution du bouillon, même en fixant le seuil de discordance CMI à plus de deux facteurs de dilution. Ces résultats corroborent la conclusion selon laquelle les méthodes de diffusion ne doivent pas être utilisées pour tester la sensibilité à la colistine chez *A. baumannii*.

Les résultats de la présente étude suggèrent que le test E pourrait être une alternative fiable et appropriée à la méthode de référence pour la détection de la résistance à la colistine dans les isolats cliniques d'*A. baumannii* par les laboratoires cliniques. Cependant, le faible accord trouvé

pour les souches sensibles pour lesquelles les CMI étaient plus faibles mérite une considération supplémentaire en ce qui concerne la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de la colistine dans le traitement des infections sévères.

Références

Bibliographiques

Bibliographie

1. AbboUNE, N.-V. S.-M.-I. (2005). *Acinetobacter baumannii* multirésistant. *Urgence Infect Dis*, 11: 22-9.
2. Adams MD, G. K. (2008). Comparative genome sequence analysis of multidrugresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol*, 190:8053– 8064.
3. Adams-Haduch JM, P. D. (2016). *Microorganisms*. 4(3):29.
4. Albrecht MA, G. M. (2006). Impact de l' infection à *Acinetobacter* sur la mortalité des patients brûlés. *J Am Coll Surg*, 203:546-50.
5. Allen HK, D. J. (2010). Call of the wild. *antibiotic resistance genes in natural environments*, 8:251–9.
6. Antunes, L. V. (2014). *Acinetobacter baumannii*. *Evolution of a global pathogen*. *Pathog*, 71: 292–301.
7. Ayoub Moubareck C., H. H. (2020). Aperçus sur *Acinetobacter baumannii*. *Examen des traits microbiologiques, de virulence et de résistance chez un agent pathogène nosocomial menaçant*. *Antibiotiques*, 9 : 119.
8. *bacterial infection*. (s.d.). Consulté le 07 11, 2021, sur Chem Biol: <https://doi.org/10.1016/>
9. Bakthavatchalam, Y., Pragasam, A., Biswas, I., & Veeraraghavan, B. (2018). Polymyxin susceptibility testing interpretative breakpoints and resistance mechanism: An update. *Antimicrob*, 12, 124–136.
10. Bartual, S., Seifert, H., Hippler, C., Luzon, M., Wisplinghoff, H., & Rodríguez-Valera, F. (2005). Development of a multilocus sequencotyping scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Microbiol*, 43, 4382–4390.
11. Baumann, P., Doudoroff, M., & Stanier, R. (1968). Une étude du groupe *Moraxella*. II. *Espèce oxydative-négative (genre Acinetobacter)*. *J. Bactériol*, 95: 1520-1541.

12. baumannii, A. (s.d.). *mBio*. Consulté le 06 11, 2021, sur The DOI® System: <https://doi.org>
13. Beceiro A, D. L. (2004). Caractérisation moléculaire du gène codant pour une nouvelle AmpC β -lactamase dans une souche clinique de l'espèce génomique *Acinetobacter* 3. *Agents Chemother*, 48, 1374–1378.
14. Behzadi E, B. P. (2016). Le rôle des récepteurs de type péage (TLR) dans les infections des voies urinaires (UTI). *CEJU*, 69 , 404-410.
15. Blackwell GA, H. M. (2016). IncM plasmid R1215 is the source of chromosomally located regions containing multiple antibiotic resistance genes in the globally disseminated *Acinetobacter baumannii* GC1 and GC2 clones.
16. Blair JMA, W. M. (2015). Piddock LJV Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques. *Microbiol*, 13 :42-51.
17. Bonomo RA, S. D. (2006). Mécanismes de résistance multidroge chez les espèces *Acinetobacter* et *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Infecter*, S49-S56.
18. Bou G, M.-B. J. (2000). Clonage, séquençage nucléotidique et analyse du gène codant pour une AmpC β -lactamase chez *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 44 : 428- 432.
19. Burgstaller, G., Oehrle, B., Gerckens, M., Blanc, E., Schiller, H., & Eickelberg, O. (2017). La matrice extracellulaire instructive du poumon: composition de base et altérations des maladies pulmonaires chroniques. 50.
20. Chen. (2020). réponses immunitaires innées de l'hôte W. à l'infection à *Acinetobacter baumannii*. De face. *Cellule. Infecter. Microbiol*. 10 , 486.
21. Chen HP, C. T. (2005). Prédicteurs de la mortalité dans la bactériémie à *Acinetobacter baumannii*. *J Microbiol Immunol Infect*, 38 : 127-36.

22. Chen N., Z. M. (2020). Caractéristiques épidémiologiques et cliniques de 99 cas de pneumonie à nouveau coronavirus 2019 à Wuhan, Chine : une étude descriptive. *Lancette*, 395 :507-513.
23. Cheng A, C. Y. (2015). Excess mortality associated with colistin-tigecycline compared with colistin-carbapenem combination therapy for extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: a multicenter prospective observational study. *Crit Care Med*, 43:1194 –1204.
24. Choi CH, L. J. (2008). *Acinetobacter baumannii* envahit les cellules épithéliales et la protéine de la membrane externe A intervient dans les interactions avec les cellules épithéliales. *BMC Microbiol*, 8 : 216 .
25. Choi JY, s. g. (2005). Facteurs de risque de mortalité de la bactériémie à *Acinetobacter baumannii*. 35: 599-603.
26. coll, B. U. (s.d.). Modification par la phosphoéthanolamine du lipide A dans les variants résistants à la colistine d' *Acinetobacter baumannii* médiée par le système de régulation à deux composants pmrAB. *Agents chimiothérapeutiques antimicrobiens* 2011, 55:3370-9.
27. coll, M. J. (2010). La résistance à la colistine chez *Acinetobacter baumannii* est médiée par une perte complète de production de lipopolysaccharides. *Agents chimiothérapeutiques antimicrobiens*, 54:4971-7.
28. coll, P. M. (2013). Des modifications structurales uniques sont présentes dans le lipopolysaccharide des souches d' *Acinetobacter baumannii* résistantes à la colistine. *Agents chimiothérapeutiques antimicrobiens*, 57:4831-40.
29. Doi Y, W. J. (2004). Propagation du nouveau gène de résistance aux aminosides aac (6') - Iad parmi les isolats cliniques d' *Acinetobacter* au Japon. *Antimicrob. Agents Chemother*, 48, 2075-2080.
30. Drawz SM, B. M. (2010). Inhibition de la β -lactamase de classe C d' *Acinetobacter* spp.: Aperçus sur la conception efficace des inhibiteurs. *Biochemistry*, 49 : 329–340.
31. Duployez C., G. R. (2020). Une épidémie peut en cacher une autre. Japon. . *J. Infecter*.

32. Elhosseiny, A. A. (2018). Acinetobacter : Un pathogène émergent avec un sécrétome polyvalent. *Émerger. Les microbes infectent*, 7 , 1-15.
33. Falagas MOI, K. S. (2006). Comparaison de la mortalité des patients atteints de bactériémie à Acinetobacter baumannii recevant un traitement empirique approprié et inapproprié. *J Antimicrob Chemother*, 57 : 1251-4.
34. Fournier PE, R. H. (2006). L'épidémiologie et le contrôle d' Acinetobacterbaumannii dans les établissements de santé. *Clin Infect Dis*, 42 : 692-9.
35. Galac M.R., S. E. (2020). A Diverse Panel of Clinical Acinetobacter baumannii for Research and Development. *Antimicrob. Agents Chemother*, 64.
36. Gales, A. A. (2001). Évaluation contemporaine des méthodes de test de sensibilité aux antimicrobiens pour la polymyxine B et la colistine : examen des critères d'interprétation disponibles et des directives de contrôle de la qualité. *Clin. Microbiologie*, 39 : 183-190.
37. Geisinger, E., Huo, W., Hernandez-Bird, J., & Isberg, R. (2019). Acinetobacter baumannii : Déterminants de l'enveloppe qui contrôlent la résistance aux médicaments, la virulence et la variabilité de surface. *Annu. Rév. Microbiol*, 73 , 481-506.
38. Ghafourian, S., Good, L., Sekawi, Z., Hamat, R., Soheili, S., Sadeghifard, N., et al. (109, 502–505). The mazEF toxin-antitoxin system asa novel antibacterial target in Acinetobacter baumannii. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2014.
39. H, A. (2008). classification et mode d'action des antibiotiques.
40. Harding, C., Hennon, s.-o., & Feldman, M. (2018). Découvrir les mécanismes de la virulence d'Acinetobacter baumannii. *Nat. Rév. Microbiol*, 16 , 91.
41. Henriksen, S. M. (1973). Acinetobacter et les Mimeae. *Bactériol*, 37 , 522-561.
42. Huang J, C. E. (2015). Sources of multidrugresistant Acinetobacter baumannii and its role in respiratory tract colonization.
43. J, B. (1957). Contribution à l'étude des Pseudomonadaceae Précisions taxonomiques sur le genre Acinetobacter. *Ann. Inst. Pastuer*, 93:397–404.

44. J, G.-M. (2019). Timsit JF Gestion des infections à *Acinetobacter baumannii*. *Cour. Avis. Infecter*, 32 :69-76.
45. Jain R, D. L. (2004). Infections à *Acinetobacter* multirésistantes : un défi émergent pour les cliniciens. *Ann. Pharmacother*, 38, 1449-1459.
46. Joly-Guillou, M.-L. (2006). Service de microbiologie. *laboratoire de bactériologie, CHU d'Angers*.
47. Kamoshida, G., Kikuchi-Ueda, T., Nishida, S., Tansho-Nagakawa, S., Ubagai, T., & Ono, Y. (2018). La bactérie pathogène *Acinetobacter baumannii* inhibe la formation de pièges extracellulaires de neutrophiles en supprimant l'adhésion des neutrophiles. *De face. Immunol*, 9: 178.
48. Kamoshida, G., Tansho-Nagakawa, S., Kikuchi-Ueda, T., Nakano, R., Hikosaka, K., Nishida, S., et al. (2016). Un nouveau mécanisme de transport bactérien d'*Acinetobacter baumannii* via des neutrophiles humains activés par l'interleukine. 100 : 1405-1412.
49. Karakonstantis S., K. E. (2020). Options de traitement pour *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* co-résistants aux carbapénèmes, aux aminosides, aux polymyxines et à la tigécycline : Une approche basée sur les mécanismes de résistance aux carbapénèmes. *Infection*, 48 :835–851.
50. Karruli A., B. F. (2021). Infections multirésistantes et résultats des patients gravement malades atteints d'une maladie à coronavirus 2019. *Infections multirésistantes et résultats des patients gravement malades atteints d'une maladie à coronavirus 2019 : une expérience dans un seul centre Microbe Résistance aux drogues*.
51. Krzyściak P., C. A.-M. (2017). *Acinetobacter baumannii* isolé d'une infection nosocomiale: production de biofilm et sensibilité aux médicaments. *APMIS*, 125 :1017-1026.
52. Kwon KT, O. W. (2007). Impact de la résistance à l'imipénème sur la mortalité chez les patients atteints de bactériémie à *Acinetobacter*. *Antimicrob Chemother*, 59 : 525-30.

53. Kwon KT, O. W. (2007). Impact de la résistance à l'imipénème sur la mortalité chez les patients atteints de bactériémie à *Acinetobacter*. *Antimicrob Chemother*, 59 : 525-30.
54. LA Arroyo I, A. G.-C.-I. (2005). Fiabilité de la méthode E-test pour la détection de la résistance à la colistine dans les isolats cliniques d'*Acinetobacter baumannii*.
55. Lambert T, G. G. (1993). Caractérisation du gène *Acinetobacter haemolyticus* *aac* Ig codant pour une aminoglycoside acétyltransférase qui modifie l'amikacine. *Antimicrob. Agents Chemother*, 37: 2093–2100.
56. Lee JH, C. C. (2007). Différences de traits phénotypiques et génotypiques contre les agents antimicrobiens entre les espèces génomiques *Acinetobacter baumannii* et *Acinetobacter*. *Antimicrob. Chemother*, 59 : 633–639.
57. Lee, C.-R., Lee, J., Parc, M., Parc, K., Bae, I., Kim, Y., et al. (2017). Biologie d'*Acinetobacter baumannii* : pathogenèse, mécanismes de résistance aux antibiotiques et options de traitement prospectives. De face. *Cellule Infecter. Microbiologie*, 7 -55.
58. Li J, N. R. (2006). Colistin: l'antibiotique réémergeant pour les infections bactériennes à Gram négatif multirésistantes. *Lancette Infect*, 6:589-601.
59. Li, F., Starrs, L., & Burgio, G. (2018). Tir à la corde entre *Acinetobacter baumannii* et les réponses immunitaires de l'hôte. *Pathogène*, 76.
60. Li, Y., Yang, X., & Zhao, W. (2017). Microtechnologies émergentes et systèmes automatisés pour l'identification rapide des bactéries et les tests de sensibilité aux antibiotiques. *Science de la vie*, 22 : 585-608.
61. Lin YC, H. K. (2010). Base génétique de la résistance multidrogue dans les isolats cliniques d' *Acinetobacter* à Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother*, 54:2078-2084.
62. Lobato-Márquez, D., Díaz-Orejas, R., & Portillo, G.-d. (2016). Toxin-antitoxins and bacterial virulence. *FEMS Microbiol*, 40 : 592–609.
63. Longo F, V. C. (2014). Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*.

64. Luo, L., Lucas, R., Liu, L., & Stow, J. (2020). Adaptateurs de signalisation, de tri et d'échafaudage pour récepteurs de type Toll. *Cell Sci*, 133.
65. Magiorakos AP, S. A. (2012). Bactéries multirésistantes, ultrarésistantes et pandrug-résistantes : une proposition d'experts internationaux pour des définitions standard provisoires de la résistance acquise. *Clin Microbiol Infect*, 18 :268–281.
66. Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol*, 18, 268–281.
67. Mangas, E., Rubio, A., Álvarez-Marín, R., Labrador-Herrera, G., Pachón, J., Pachón-Ibáñez, M., et al. (2019). J.Pangenome of *Acinetobacter baumannii* uncovers two groups of genomes, one of them with genes involved in CRISPR/Casdefence systems associated with the absence of plasmids and exclusive genes for biofilm formation. *Microb. Genom*, 5.
68. McConnell MJ, A. L. (2013). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS microbiology reviews*, 37(2):130-55.
69. Morris, F., Dexter, C., Kostoulas, X., Uddin, M., & Peleg, A. (2019). Les mécanismes de la maladie causée par *Acinetobacter baumannii*. *De face. Microbiole*, 10 , 1601.
70. MP, D. (2006). Antimicrobial resistance: implications for the food system. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 5:71–137.
71. Mulani MS, K. E. (2019). Stratégies émergentes pour lutter contre les agents pathogènes ESKAPE à l'ère de la résistance aux antimicrobiens : un examen. *De face. Microbiole*, 10 :539.
72. N, H. (2012). Identification d'*Acinetobacter* spp. au laboratoire. *Revue Francophone des Laboratoires*, 441:37-42.

73. Nordmann P, P. L. (2002). carbapénémases émergentes dans les aérobies à Gram négatif. *Clin. Microbiol. Infecter*, 8 : 321–331.
74. Pakharukova N., T. M. (2018). Base structurale pour la formation de biofilm d' *Acinetobacter baumannii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. ETATS-UNIS*, 115 :5558–5563.
75. Peleg, A., Seifert, H., & Paterson, D. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol*, 21 : 538–582.
76. Piperaki ET, T. L. (2019). *Acinetobacter baumannii* résistant aux carbapénèmes : À la recherche d'un traitement efficace. *Clin. Microbiol. Infecter*, 25 :951–957.
77. Pires, S., & Parker, D. (2019). Réponses immunitaires innées à *Acinetobacter baumannii* dans les voies respiratoires. *J. Interféron Cytokine Res*, 39 : 441-449.
78. Ribera A, F.-C. F. (2004). Sensibilité aux antimicrobiens et mécanismes de résistance aux quinolones et β -lactamines dans les génospèces d' *Acinetobacter* 3. *Antimicrob. Agents Chemother*, 48,1430–1432.
79. Ripa M., G. L. (2021). Infections secondaires chez les patients hospitalisés avec COVID-19 : incidence et facteurs prédictifs. *Clin. Microbiol. Infecter*, 27 :451-457.
80. Sacco, F., Visca, P., Runci, F., Antonelli, G., & Raponi, G. (2021). Susceptibility Testing of Colistin for *Acinetobacter baumannii*: How Far Are We from the Truth? *Antibiotics*, 10,48.
81. Sacha P, O. A. (2009). Les β -lactamases de type KPC: nouvelles enzymes qui confèrent une résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *Cytobiol*, 47 : 537 - 543.
82. Seifert H, S. U. (1995). Bactériémie nosocomiale due à *Acinetobacter baumannii*: caractéristiques cliniques, épidémiologie et prédicteurs de mortalité. *Médecine (Baltimore)*, 74 : 340-9.
83. Seward RJ, L. T. (1998). Épidémiologie moléculaire de la résistance aux aminosides chez *Acinetobacter*. *Med. Microbiol*, 47 : 455–462.

84. Sharifipour E., S. S.-A. (2020). Évaluation des co-infections bactériennes des voies respiratoires dans le COVID-19 patients admis en réanimation. *BMC Infect*, 20 :646.
85. Sheng WH, L. Y. (2009). Identification d'une sensibilité distincte à la ciprofloxacine chez *Acinetobacter* spp. par détection de la mutation du gène *gyr A* par PCR en temps réel. *Mol. Cellule. Probes*, 23 :154–156.
86. Springman AC, L. D. (2009). Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *J Bacteriol*, 191:5419–27.
87. Sunenshine RH, W. M. (2007). Taux de mortalité par infection à *Acinetobacter* multirésistante et durée d'hospitalisation. *Urgence Infect*, 13 : 97-103.
88. Tache S, V. K. (2003). Bactériémie nosocomiale impliquant *Acinetobacter baumannii* chez des patients gravement malades: une étude de cohorte appariée. *Soins intensifs Med*, 29 : 471-5.
89. Touchon, M., Cury, J., Yoon, E., Krizova, L., Cerqueira, G., Murphy, C., et al. (2014). The genomic diversification of the whole *Acinetobacter* genus: Origins, mechanisms, and consequences. *Genome Biol*, 6 : 2866–2882.
90. Tyumentseva, M., Mikhaylova, Y., Prelovskaya, A., Tyumentsev, A., Petrova, L., Fomina, V., et al. (2021). Genomic and Phenotypic Analysis of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates Carrying Different Types of CRISPR/Cas Systems. *Pathogens*, 10, 205.
91. Vanechoutte, M. L. (1995). Identification des espèces génomiques d' *Acinetobacter* par analyse de restriction d'ADN ribosomique amplifié. *J. Clin. Microbiologie*, 33 : 11-15.
92. Vasoo, S. (2019). Susceptibility Testing for the Polymyxins: Two Steps Back, Three Steps Forward? *J Clin. Microbiol*, 55, 2573–2582.
93. Vert, u., Juttukonda, L., & Skaar, E. (2020). Le Régulateur Transcriptionnel Réactif Au Manganèse MumR Protège *Acinetobacter baumannii* Du Stress Oxydatif. *Infecter. Immun*, 88 , e00762-19.

94. Vijayakumar, S., Biswas, I., & Veeraraghavan, B. (2019). Identification précise d' *Acinetobacter* spp. d'importance clinique : une mise à jour. *Future Sci*, 5 , 395.
95. Vila J, R. J. (1995). Mutation dans le gène *gyr A* d'isolats cliniques résistants aux quinolones d' *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 39,1201-1203.
96. Vrancianu CO, G. I. (2020). Profils de résistance aux antibiotiques, mécanismes moléculaires et stratégies de traitement innovantes d' *acinetobacter baumannii*. *Micro-organismes*, 8 :935.
97. Wachino J, A. Y. (2012). Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria. *Drug Resist*, 15:133-48.
98. Yakkala, H., Samantarrai, D., Gribskov, M., & Siddavattam, D. (2019). Comparative genome analysis reveals niche-specific genomeexpansion in *Acinetobacter baumannii*. *strains*, 14.
99. Yang CH, S. P. (2019). Formation de biofilm chez *Acinetobacter baumannii* : corrélation génotype-phénotype. *Molécules*, 24 :1849.
100. Zhang, Y., Zhang, H., Zhou, X., Xu, Y., Wang, Y., Ouyang, Z., et al. (2018). L'activation du récepteur du facteur d'activation plaquettaire par *Acinetobacter baumannii* entraîne un stress oxydatif et une apoptose dans les cellules épithéliales bronchiques humaines. *Cell. Mol. Immunol*, 34 : 421-426.
101. Zurawski DV, B. M. (2015). Resources for genetic.