

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



**Département de Biologie**

*Intitulé du Laboratoire de recherche : LAMAABE*

## MÉMOIRE

Présenté par :

M<sup>lle</sup> : CHIALI Lilya et M<sup>lle</sup> LALLAM Kawther Nadjia

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

*En Génétique*

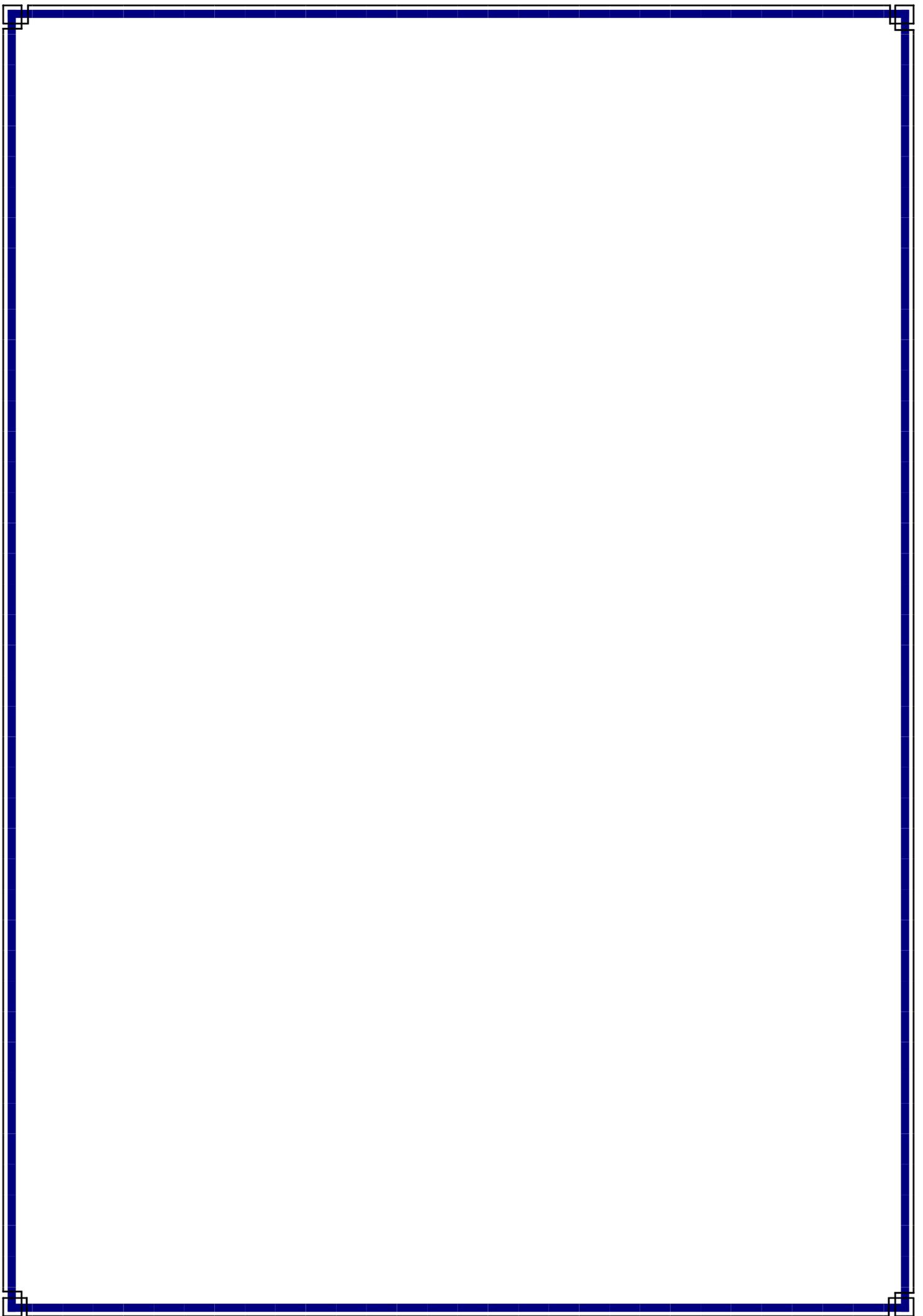
**Thème**

**Résistance aux antibiotiques de souches cliniques d'*Acinetobacter Baumannii* : Aspects génétiques**

Soutenu le 03 Juillet 2024, devant le jury composé de :

Président	: Mr. GAOUAR Samir Bachir Suheil	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	: Mr. REBIAHI Sid ahmed	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	: Mr. BELYAGOUBI Larbi	Professeur	Université de Tlemcen
Invité(e)	: BOUAYAD Djazia	Doctorante	Université de :

**Année universitaire 2023-2024**



## *Remerciements*

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

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers toutes les personnes qui m'ont soutenu tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nos remerciements sont en premier lieu à Monsieur Rebiahi Sid ahmed notre encadrant pour ses conseils éclairés, son soutien constant et sa patience tout au long de ce projet.*

*Nous souhaitons également remercier chaleureusement Monsieur Saouar Samir Bachir Suheil, chef de spécialité, ainsi que tous les membres du jury, parmi lesquels Monsieur Belyagoubi Larbi, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Nos remerciements s'étendent pareillement à notre invitée, Madame Bouayad Djazia*

*Ma gratitude va également à tous nos professeurs qui nous ont enseigné 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.*

# TABLE DES MATIÈRES

## TABLE DES MATIÈRES

I.	Liste des tableaux	
II.	Liste des figures	
III.	Liste des abréviations	
	INTRODUCTION .....	1
	PREMIERE PARTIE : .....	4
	Synthese bibliographique .....	4
	Chapitre I : Bactérie <i>Acinetobacter</i> .....	5
I.	Les caractères bactériologiques .....	6
1.	Définition d' <i>Acinetobacter</i> .....	6
2.	La structure de la bactérie <i>Acinetobacter</i> .....	6
3.	Caractérisation de la Bactérie .....	7
II.	Position taxonomique de la bactérie.....	7
III.	Pouvoir pathogène .....	10
IV.	Etudes épidémiologiques .....	12
	Chapitre II : Les antibiotiques.....	15
I.	Définition.....	16
II.	Les familles d'antibiotiques.....	17
III.	Mode d'action et conditions d'activation des antibiotiques.....	18
	Chapitre III : La résistance aux antibiotiques .....	21
I.	Mécanisme résistance aux antibiotiques .....	22
1.	Intérêt de l'étude de la résistance aux antibiotiques : .....	22
II.	Les types de mécanismes de résistances génétiques : .....	24
III.	Gènes de résistance aux antibiotique .....	26
	DEUXIEME PARTIE : .....	28
	MATERIELS ET METHODES .....	28
I.	Matériel .....	29
1.	Type d'étude, durée et lieu .....	29
2.	L'isolement .....	29
3.	Matériel biologique .....	29
II.	Méthodes .....	29
1.	Identification des <i>Acinetobacter</i> .....	29
2.	La coloration de gram.....	29

3. Préparation des milieux de culture .....	30
4. Isolement et purification .....	31
5. L'antibiogramme .....	32
TROISIEME PARTIE :.....	34
RESULTATS ET DISCUSSION .....	34
I. Isolement et purification .....	35
II. Les résultats de l'antibiogramme .....	35
III. Taux de résistance de la souche d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	36
IV. Discussion des résultats.....	40
Conclusion .....	41

## ***I. Liste des tableaux***

Tableau 1 Classification du genre <i>Acinetobacter</i> .....	10
Tableau 2 : Classes et premières années d'utilisation des principaux antibiotiques (Cardot et al;2019) .....	16
Tableau 3: Mode d'action des antibiotiques.....	18
Tableau 4 : OXA carbapenemases en <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	27
Tableau 5 :Taux de résistance aux antibiotiques .....	36
Tableau 6 :Les résultats montrent une variation dans les taux de résistance observés parmi les souches testées .....	37

## ***II. Liste des figures***

Figure1 Acinetobacter Baumannii (grossissement fois 12,739) (Fournier et al., 2006).....	7
Figure 2 ; Taxonomie du genre Acinetobacter : .....	9
Figure 3 : Facteurs qui contribuent à la persistance environnementale d'Acinetobacter baumannii ainsi qu'à l'infection et à la colonisation de l'hôte.....	11
Figure 4 : Aperçu de la dynamique entre les patients (Dijkshoorn et al;2007 : les bactéries et l'environnement hospitalier .....	13
Figure.5:Mode d'action des antibiotiques (Bensegueni et Torche, 2020) .....	18
Figure 6: Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	22
Figure 7 : différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de Guardabassi et Courvalin (2006).....	25
Figure 8 : le milieu MacConkey (photo personnelle) .....	30
Figure 9 :Muller hinton photo personnalisé.....	31
Figure 10 : le tube BHIB (photo personnelle).....	32
Figure11 : Aspect d'acinetobacter sur milieu MacConkey( photo personnelle).....	35
Figure 12 :Résultat d'antibiogramme( photo personnelle).....	35

### ***III. Liste des abréviations***

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique message

AME : Aminoglycoside modifying enzyme

BGN : bacille à Gram négatif

BGN-MR : bacille à Gram négatif multirésistant

MDR : bactérie multirésistante

MALDI-TOF MS : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass spectrometry

NaCl : chlorure de sodium

PCR : polymerase chain reaction

spp. : Espèce

Tn : transposon

*A.Baumannii* : *Acinetobacter baumannii*

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

## ملخص

أصبحت وكيل ممرض مزعج للغاية للعديد من المؤسسات في جميع أنحاء العالم. نظرًا لقدرتها *Acinetobacter* راکضة باومانيا الهائلة على اكتساب أو تنظيم إيجابي لعوامل مقاومة الأدوية الحيوية، تم إدراجها بالفعل في مقدمة الاهتمام العلمي بحق. بالإضافة إلى افتقارها للأشخاص الذين يعانون من أمراض خطيرة في وحدات العناية المركزة، يفحص هذا البحث آليات المقاومة للسلاسل من ، وهي ممرضة ناشئة في البيئة المستشفائية معروفة بقدرتها على تطوير المقاومة للأدوية *Acinetobacter* راکضة باومانيا الحيوية. من خلال إجراء نماذج جرثومية مفصلة، قمنا بتقييم حساسية هذه السلالات تجاه مجموعة متنوعة من الأدوية الحيوية. تسلط النتائج الضوء على ملامح متنوعة للمقاومة، مما يؤكد على أهمية فهم هذه الآليات بشكل حاسم لتوجيه استراتيجيات العلاج بفعالية. في سياق المقاومة المضادة للميكروبات *Acinetobacter* تساهم هذه الدراسة في إثراء فهمنا للتحديات التي تواجهها راکضة باومانيا

**الكلمات المفتاحية:** راکضة باومانيا، وكيل ممرض، مضادات حيوية، بكتيريا

## Abstract

*Acinetobacter baumannii* has become a highly problematic pathogen for many institutions worldwide. Due to its immense ability to acquire or upregulate antibiotic resistance determinants, it has rightfully been thrust into the forefront of scientific attention. Besides its predilection for severely ill individuals in intensive care units, this dissertation examines the resistance mechanisms of *Acinetobacter* strains, an emerging hospital-acquired pathogen known for its ability to develop antibiotic resistance. Through detailed antibiogram testing, we evaluated the sensitivity of these strains to various antibiotics. The results highlight diverse resistance profiles, underscoring the critical importance of understanding these mechanisms to effectively guide therapeutic strategies. This study contributes to enhancing our understanding of the challenges posed by *Acinetobacter* in the context of antimicrobial resistance.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, pathogen, antibiotics, bacteria.

## Résumé

*Acinetobacter baumannii* est devenu un agent pathogène très gênant pour de nombreuses institutions à travers le monde. En raison de son immense capacité à acquérir ou à réguler positivement les déterminants de la résistance aux antibiotiques, il a été à juste titre propulsé au premier plan de l'attention scientifique. Outre sa prédilection pour les personnes gravement malades dans les unités de soins intensifs

Ce mémoire examine les mécanismes de résistance des souches de *Acinetobacter*, un pathogène émergent en milieu hospitalier connu pour sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques. À travers la réalisation d'un antibiogramme détaillé, nous avons évalué la sensibilité de ces souches à divers antibiotiques. Les résultats mettent en évidence des profils de résistance variés, soulignant l'importance critique de comprendre ces mécanismes pour orienter efficacement les stratégies thérapeutiques. Cette étude contribue à enrichir notre compréhension des défis posés par *Acinetobacter* dans le contexte de la résistance antimicrobienne.

**Mots clés :** *Acinetobacter baumannii*, agent pathogène, antibiotiques, Bactérie.

# INTRODUCTION

## Introduction

Les micro-organismes pathogènes sont responsables, chaque année de maladies entraînant de graves conséquences sanitaires et économiques (Peleg *et al*;2008)

Le genre *Acinetobacter* est en train de devenir un des agents pathogènes les plus nocifs pour les établissements de santé du monde entier en raison de leur capacité à réguler positivement la résistance aux antibiotiques. Ils sont particulièrement dangereux pour les patients gravement malades hospitalisés dans les unités de soins intensifs. Les souches d'*A. baumannii* est une cause importante d'infections nosocomiales chez les patients gravement malades, la pneumonie nosocomiale et les infections sanguines étant les plus courantes. (Pérez *et al*;2007)

Ils ont montré une résistance à tous les antibiotiques connus et ils peuvent se propager de manière épidémique, avec des manifestations récentes. Il s'agit d'un événement grave auquel la communauté internationale de la santé doit réagir rapidement réagir (Cardot *et al*; 2019)

Les micro-organismes cible généralement les patients hospitalisés les plus vulnérables, ceux qui sont gravement malades et présentent des atteintes à l'intégrité de la peau et à la protection des voies respiratoires. Comme le rapporteur des études remontant aux années 1970 (1999), la pneumonie nosocomiale reste l'infection la plus courante causée par cet organisme. Cependant, plus récemment, les infections touchant le système nerveux central, la peau, les tissus mous et les os sont devenues très problématiques pour certaines institutions. L'intérêt pour *Acinetobacter*, tant de la part de la communauté scientifique que du public, a fortement augmenté ces dernières années. (Peleg *et al*;2008)

L'existence de souches résistantes à tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique humaine place *A. baumannii* parmi les organismes qui menacent l'arsenal thérapeutique actuel. La vitesse avec laquelle les gènes de résistance sont apparus dans les souches cliniques s'est avérée fulgurante d'un point de vue évolutif. L'apparition fréquente, en moins de 50 ans, d'une variété très grande de gènes de résistance suggérait alors leur acquisition via un réservoir de gènes préexistants (Recchia *et al.*, 1997). Malheureusement, l'accumulation de De multiples mécanismes de résistance conduit au développement de souches multirésistantes voire « panrésistantes ». ( Dijkshoorn *et al*;2007)

L'émergence et la propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques causant une infection est une grande préoccupation pour les cliniciens. Depuis la description séminale d'une enzyme inactivant la pénicilline chez *Escherichia coli*, la lutte acharnée de 75 ans contre ces bactéries a été qualifiée à juste titre de « guerre ingagnable. (Dijkshoorn *et al*;2007)

## Introduction

Notre étude mis en évidence les caractères de sensibilité et de résistance aux antibiotiques des souches trouvés des bactéries nosocomiales de type *Acinetobacter* et une analyse bibliographique basée sur la génétique de cette espèce.



**PREMIERE PARTIE :**  
**Synthese bibliographique**

# Chapitre I : Bactérie

## *Acinetobacter*

## PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

#### I. Les caractères bactériologiques

##### 1. Définition d'*Acinetobacter*

*Acinetobacter* appartient à la famille des Moraxellaceae dans la classe des Gammaproteobacteria (Alouane, 2022). Des espèces d'*Acinetobacter* ont été récupérées dans pratiquement tous les échantillons de sol et d'eau, elles peuvent faire partie de la flore normale et certaines ont des rôles d'agents pathogènes humains (Al Atrouni et al., 2016; Baumann, 1968; Weber *et al.*, 2016). L'espèce *A. baumannii* est à l'origine de la majorité des infections cliniques causées par les espèces d'*Acinetobacter* et est un agent pathogène nosocomial important qui provoque des infections opportunistes (Joly-Guillou, 2005).μ

Le genre *Acinetobacter* est un groupe hétérogène d'organismes qui comprend 17 espèces nommées et 15 espèces qui n'ont pas encore de nom valide. *Acinetobacter baumannii* et les espèces génomiques étroitement apparentées 3 et 13TU sont cliniquement les espèces les plus importantes (Dijkshoorn, 2007)

##### 2. La structure de la bactérie *Acinetobacter*

Le premier génome d'*A. baumannii* a été séquencé en 2006 (Fournier *et al.*, 2006), et à l'avènement de ce projet, il y avait 17 génomes complets, dont 9 appartenaient aux IC-II. La taille du génome d'*A. baumannii* varie de 3,7 Mb à 4,3 Mb, avec un pourcentage de Guanine-Cytosine (GC) d'environ 39% (figure1). La densité des régions codant pour les protéines est relativement homogène avec 87% du génome totale (Adams *et al.*, 2008; Hamidian *et al.*, 2020). Les tentatives pour définir le core génome d'*A. baumannii* variaient en fonction du nombre des souches analysées, mais les preuves globales suggèrent qu'il se situe entre 1455 et 2688 gènes (L. C. S. Antunes et al., 2014; Hassan et al., 2016). Cela représente environ 60% du contenu moyen du génome de la souche et code principalement pour des protéines impliquées dans les processus métaboliques et cellulaires. Alors que, le pangénome, est d'une taille impressionnante avec plus de 7000 gènes (Hassan et al., 2016) et continuera de croître à mesure que davantage de séquences seront ajoutés. La plasticité génomique présentée par *A. baumannii* est un facteur important dans la capacité de cette bactérie à s'adapter à une large gamme d'hôte (Gallagher *et al.*, 2015).

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

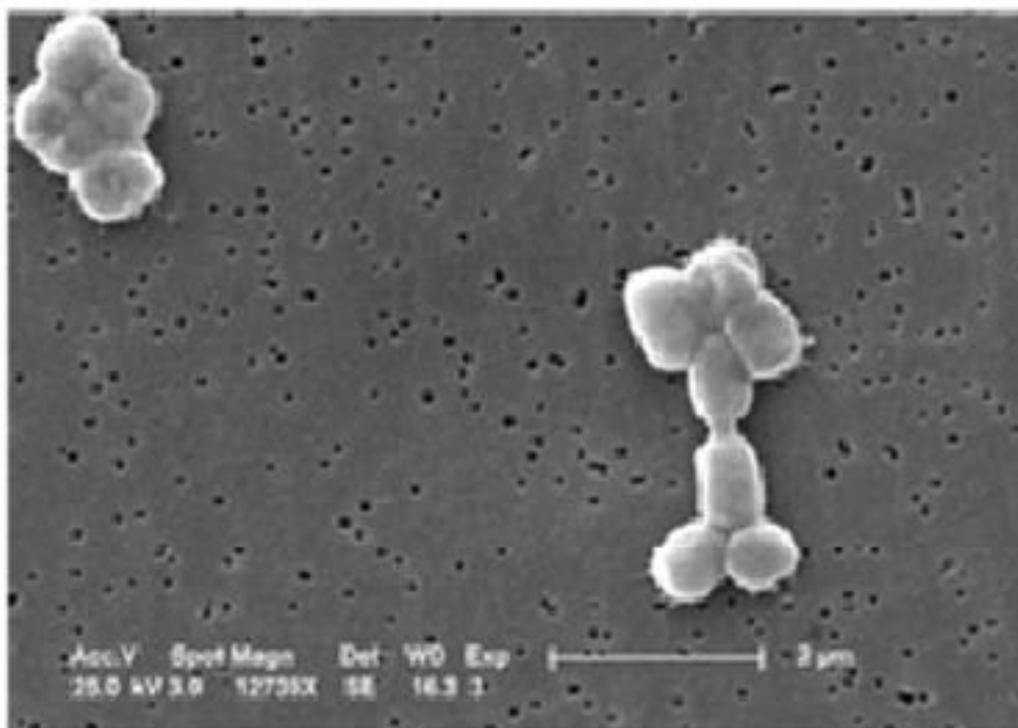


Figure1 *Acinetobacter Baumannii* (grossissement fois 12,739) (Fournier et al., 2006)

#### 3. Caractérisation de la Bactérie

Les *Acinetobacters* peuvent être identifiés de manière présumée au niveau du genre comme étant des coccobacilles non mobiles du Grec « akinetos » a été proposé par Brisou et Prévot en 1954 , pour les séparer des microorganismes mobiles du genre *Achromobacter* à Gram négatif, catalase-positive, oxydase-négative, au métabolisme strictement aérobie, peu exigeant, et non fermentant (Peleg *et al*;2008).

Les espèces d'*Acinetobacter* d'origine humaine se développent bien sur des milieux solides couramment utilisés dans les laboratoires de microbiologie clinique, *A. baumannii* se trouve dans de nombreux établissements de soins de santé et constitue un colonisateur humain efficace dans les hôpitaux en raison de sa résilience environnementale et de ses déterminants de résistance. C'est également la cause de nombreuses épidémies mondiales, avec des taux de résistance croissants (Giacomo,2023)

#### II. Position taxonomique de la bactérie

A partir des années 70, les progrès de la génétique moléculaire permirent l'émergence de la taxonomie génotypique, et non plus seulement phénotypique. En utilisant les techniques d'hybridation ADN, Bouvet et Grimont (1986) étoffèrent la description du genre *Acinetobacter* en y ajoutant plusieurs espèces dont *A. baumannii*

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

En 1991, Rossau *et al.*, classifièrent *Acinetobacter* dans une nouvelle famille - auparavant dans la famille Brucellaceae (Breed *et al.*, 1957) ; puis Branhamaceae (Catlin BW, 1991) - à savoir la famille Moraxellaceae, au côté des genres Moraxella, Psychrobacter et d'autres genres apparentés

L'hybridation des techniques ADN-ADN a ajouté des techniques d'amplification et de séquençage pour l'ARN ribosomal 16S, le coefficient de Chargaff et des techniques de taxonomie à l'aide de logiciels informatiques. Les méthodes PCR et MALDI-ToF ont également été utilisées pour identifier des marqueurs membranaires et ribosomiques spécifique. Le nombre d'espèces d'*Acinetobacter* a augmenté, avec 106 espèces différentes actuellement connues, dont 76 valides scientifiquement validées. Certaines espèces d'*Acinetobacter* sont considérées comme potentiellement pathogènes pour l'homme, comme le complexe *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*. Certaines espèces d'*Acinetobacter*, dont le complexe Acb, sont également considérées comme pathogènes pour l'hommes. (Alouane, 2022)

Selon la classification de Bergey de 2002, il appartient en fait à l'ordre des Pseudomonadales, qui contient deux familles distinctes : les Pseudomonadaceae et les Moraxellaceae. Trois genres font partie de cette seconde famille : - Moraxella (dont l'espèce *M. catarrhalis* est aussi appelée *Branhamella catarrhalis*) ; - *Acinetobacter* ; - Psychrobacter (valogjea, 2013). La position taxonomique d'*Acinetobacter* est la suivante (Rotini, 2023) (figure2) :

Domaine : Bacteria  
Embranchement : Pseudomonadota  
Classe : Gammaproteobacteria  
Ordre : Pseudomonadales  
Famille : Moraxellaceae  
Genre : *Acinetobacter*

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

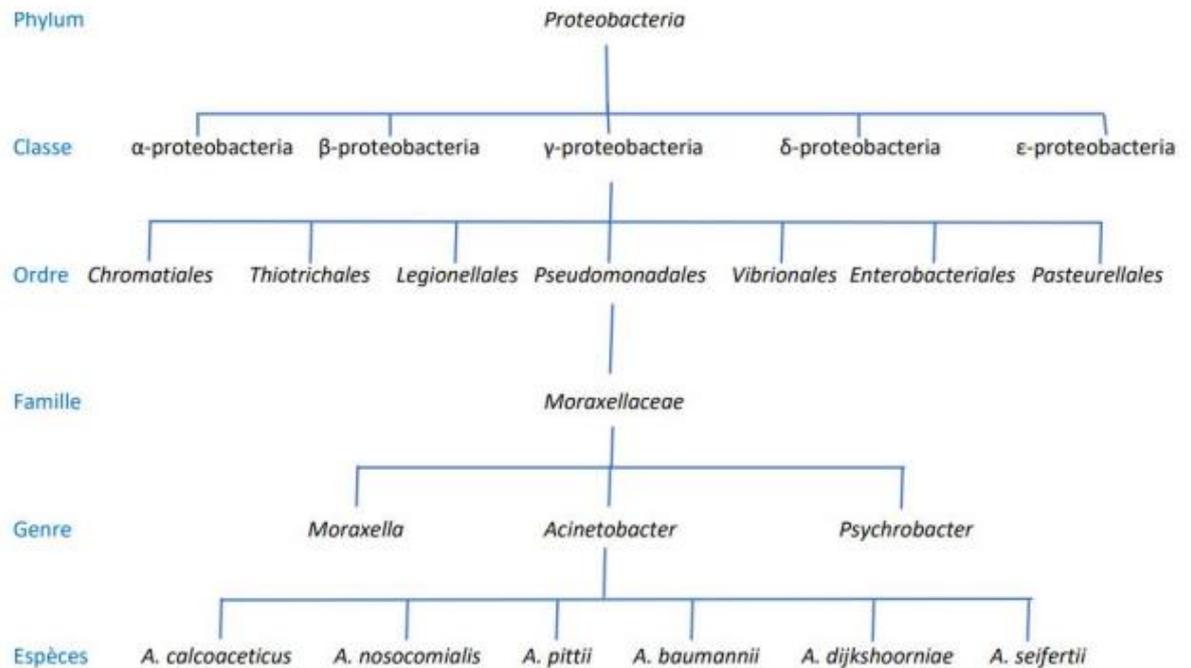


Figure 2 : Taxonomie du genre *Acinetobacter*

Une évolution récente de la taxonomie proposée par Liao *et al.*, plaçant la famille Moraxellaceae, non plus dans l'ordre des Pseudomonadales, mais dans un nouvel ordre, celui des Moraxellales (Rotini, 2023)

*Acinetobacter baumannii*, un groupe de bactéries hétérogènes, est souvent associé aux infections hospitalières, notamment aux pneumonies et aux infections sanguines. La taxonomie de ce groupe a évolué depuis 1980, avec 17 espèces reconnues et 15 espèces génétiques définies par hybridation ADN-ADN. Malgré de nombreuses études sur sa propagation épidémiologique, on sait peu de choses sur les mécanismes qui ont influencé son évolution vers la multirésistance et l'épidémie.

espèce	Source
<b>Espèces qui ont des noms valides</b>	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Sol et humain (y compris les échantillons clinique)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	humain (y compris les échantillons clinique) ,sol légume et viande
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	Humain (y compris les échantillons clinique)
<i>Acinetobacter junii</i>	Humain (y compris les échantillons clinique)
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Humain (y compris les échantillons clinique)et animales

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

<i>Acinetobacter lwoffii</i> (including gen.sp. 9)	Humain (y compris les échantillons clinique)et animales
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	Humain (y compris les échantillons clinique) ,sol et coton
<i>Acinetobacter ursingii</i>	Humain (y compris les échantillons clinique)
<i>Acinetobacter schindleri</i>	Humain (y compris les échantillons clinique)
<i>Acinetobacter parvus</i>	Humain (y compris les échantillons clinique)et animales
<i>Acinetobacter baylyi</i>	Sturge activé et sol
<i>Acinetobacter bouvetii</i>	Sturge activé
<i>Acinetobacter townneri</i>	Sturge activé
<i>Acinetobacter tandoii</i>	Sturge activé
<i>Acinetobacter grimontii</i>	Sturge activé
<i>Acinetobacter tjernbergiae</i>	Sturge activé
<i>Acinetobacter gernerii</i>	Sturge activé

(Dijkshoorn *et al*;2007)

Tableau 1 Classification du genre *Acinetobacter*

*Acinetobacter baumannii*, une bactérie présente dans les hôpitaux, est connue pour la présence endémique et épidémique de souches MDR. Les espèces sont les plus fréquentes dans les échantillons cliniques humains. Les données sur la présence environnementale d'*A. baumannii* sont peu utilisés, mais sont également retrouvées dans les légumes, le poisson, la viande et le sol. Les données existantes indiquent qu'*A. baumannii* a une faible prévalence dans la communauté et que sa présence dans l'environnement est rare. Les enquêtes ont été ponctuelles et des études plus approfondies sont nécessaires pour comprendre sa véritable importance. (Dijkshoorn *et al*;2007)

### III. Pouvoir pathogène

L'hospitalisation dans les années 1960 et 1970 a conduit à des infections dues à *A. baumannii*, qui peut former et maintenir un système de biofilm, persister sur les surfaces abiotiques et résister au dessèchement. Il colonise les dispositifs médicaux comme les cathéters, les tubes d'intubation et les systèmes urinaires, contaminant potentiellement la peau du personnel soignant. L'exposition aux antibiotiques et les ruptures anatomiques sont des facteurs de risque majeurs d'infections à *A. baumannii*. (valogjea, 2013)

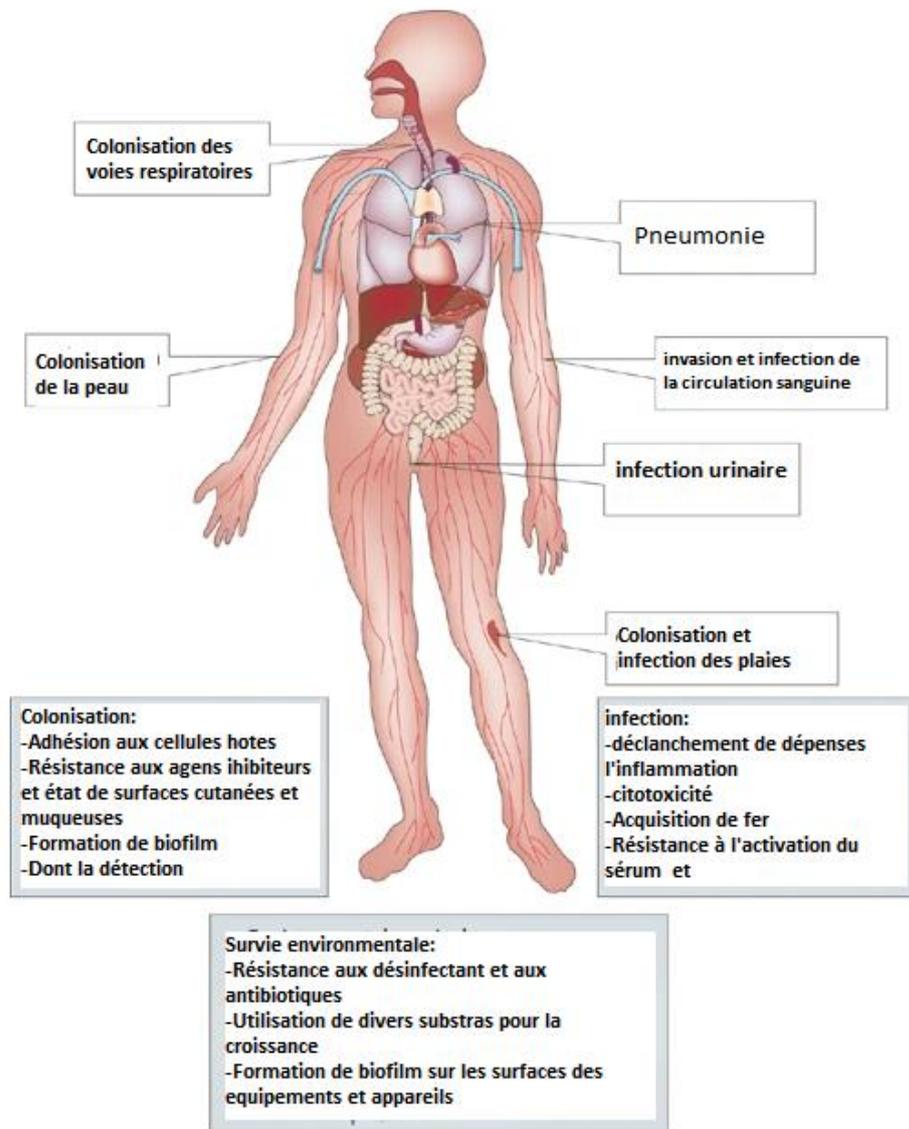
Comme les *Pseudomonas*, les *Acinetobacter* sont principalement responsables d'infections nosocomiales, surtout chez les patients affaiblis (immunodépression). Les pathologies sont des septicémies, des méningites, des endocardites, des abcès, des surinfections

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

des plaies, des pneumopathies, des infections urinaires... L'espèce majoritairement en cause est *Acinetobacter baumannii*. (valogjea, 2013)

La pathogénicité d'*A. baumannii* est généralement faible, la colonisation étant plus courante que l'infection (figure 2). Cependant, des infections graves peuvent survenir. Les études actuelles sur les facteurs d'épidémicité et de pathogénicité en sont à leurs débuts et nécessitent des études génétiques, moléculaires et expérimentales.



(Dijkshoorn *et al*;2007)

Figure 3 : Facteurs qui contribuent à la persistance environnementale d'*Acinetobacter baumannii* ainsi qu'à l'infection et à la colonisation de l'hôte.

L'adhésion aux cellules hôtes est cruciale pour la colonisation, et les organismes doivent résister aux antibiotiques et aux conditions présentes sur les surfaces cutanées et muqueuses.

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

Les excroissances sur les dispositifs médicaux peuvent entraîner la formation de biofilms, augmentant ainsi le risque d'infection. Des facteurs tels que le lipopolysaccharide et la protéine A de la membrane externe peuvent jouer un rôle dans l'infection. Les mécanismes d'acquisition du fer et la résistance au sérum humain sont essentiels à la survie. La survie et la croissance dans l'environnement nécessitent des attributs tels que la résistance au dessèchement, la polyvalence, la capacité de formation de biofilm et les mécanismes de réponse au stress. (Dijkshoorn *et al*;2007)

#### IV. Etudes épidémiologiques

La plupart des espèces d'*Acinetobacter* ont été trouvées dans des échantillons cliniques, mais toutes ne sont pas considérées comme cliniquement significatives. Une question importante est de savoir d'où vient *A. baumannii* ? Par ailleurs, existe-t-il des réservoirs environnementaux ou communautaires ? (Rotini, 2023)

*A. baumannii* se trouve dans de nombreux établissements de soins de santé et constitue un colonisateur humain efficace dans les hôpitaux en raison de sa résilience environnementale et de ses déterminants de résistance. (Rotini, 2023)

*Acinetobacter baumannii* pourrait être responsable d'infections communautaires dans les régions tropicales et a été trouvé dans divers réservoirs environnementaux tels que le sol, l'eau, les plantes et les animaux. Cependant, le rôle exact de ces réservoirs dans la transmission humaine reste flou. *Acinetobacter baumannii* a été trouvé dans diverses parties de l'environnement, notamment les légumes, le poisson, la viande et le sol. Bien qu'il soit décrit comme un organisme vivant dans le sol, il existe peu de preuves qu'il s'agisse d'un résident typique du sol. (Rotini, 2023)

*A. baumannii* dans les hôpitaux : *A. baumannii*, une bactérie présente dans les hôpitaux, est connue pour la présence endémique et épidémique de souches MDR. Son rôle en milieu hospitalier est souvent sous-estimé en raison de sa difficulté phénotypique. La plupart des enquêtes ont été ponctuelles et des études plus approfondies sont nécessaires pour comprendre sa véritable importance. Le typage épidémiologique, principalement grâce à des méthodes génotypiques telles que l'analyse AFLP, permet de distinguer les souches épidémiques des souches concurrentes en évaluant leurs sources et leur mode de transmission. Certaines souches ont une plus grande tendance à se propager épidémiquement, ce qui souligne l'importance de comprendre les circonstances locales et les souches des épidémies. (Rotini, 2023)

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

La figure 3 illustre la dynamique de l'épidémie d'*A. baumannii* dans un service d'hôpital. Une souche épidémique est le plus souvent introduite par un patient colonisé. Une fois sur un service, la souche peut alors se propager aux autres patients et à leur environnement. *A. baumannii* peut survivre dans des conditions sèches et lors d'épidémies a été récupéré à partir de divers sites de l'environnement des patients, notamment des rideaux de lit, des meubles et des équipements hospitaliers. Ces observations, ainsi que le succès du nettoyage et de la désinfection des chambres des patients dans l'arrêt des épidémies, soulignent le rôle de l'environnement hospitalier en tant que réservoir d'*A. baumannii* lors des épidémies. La bactérie peut se propager par voie aérienne sur de courtes distances dans les gouttelettes d'eau et dans les écailles de la peau des patients colonisés, mais le mode de transmission le plus courant est celui des mains du personnel hospitalier. Les patients colonisés ou infectés par une souche particulière d'*A. baumannii* peuvent être porteurs de cette souche sur différents sites corporels pendant des périodes de plusieurs jours à plusieurs semaines, et la colonisation peut passer inaperçue si la souche épidémique n'est pas détectée dans les échantillons cliniques (Dijkshoorn *et al*;2007)

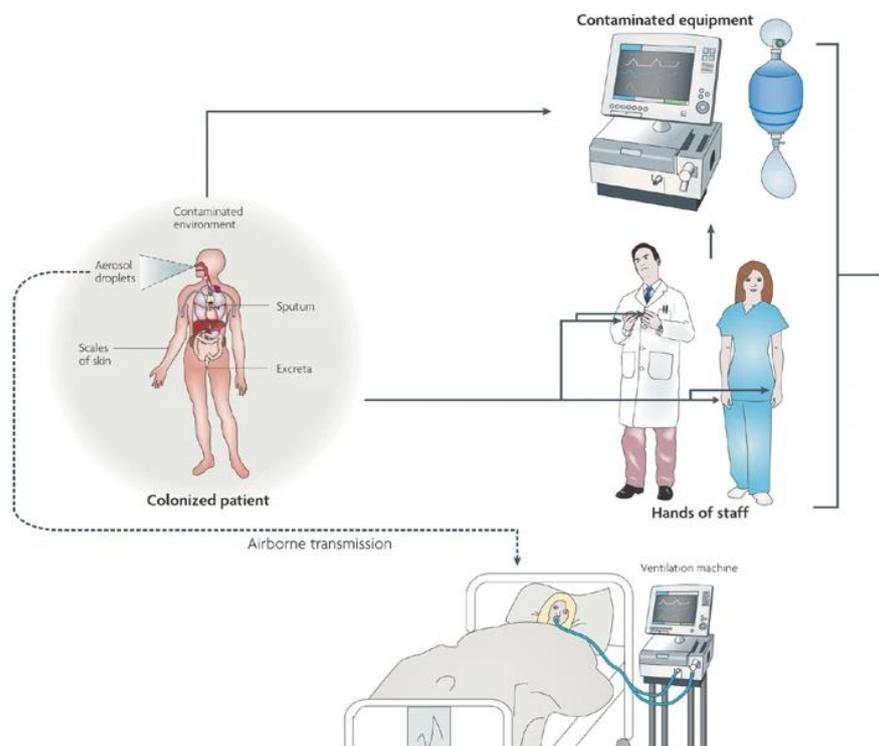


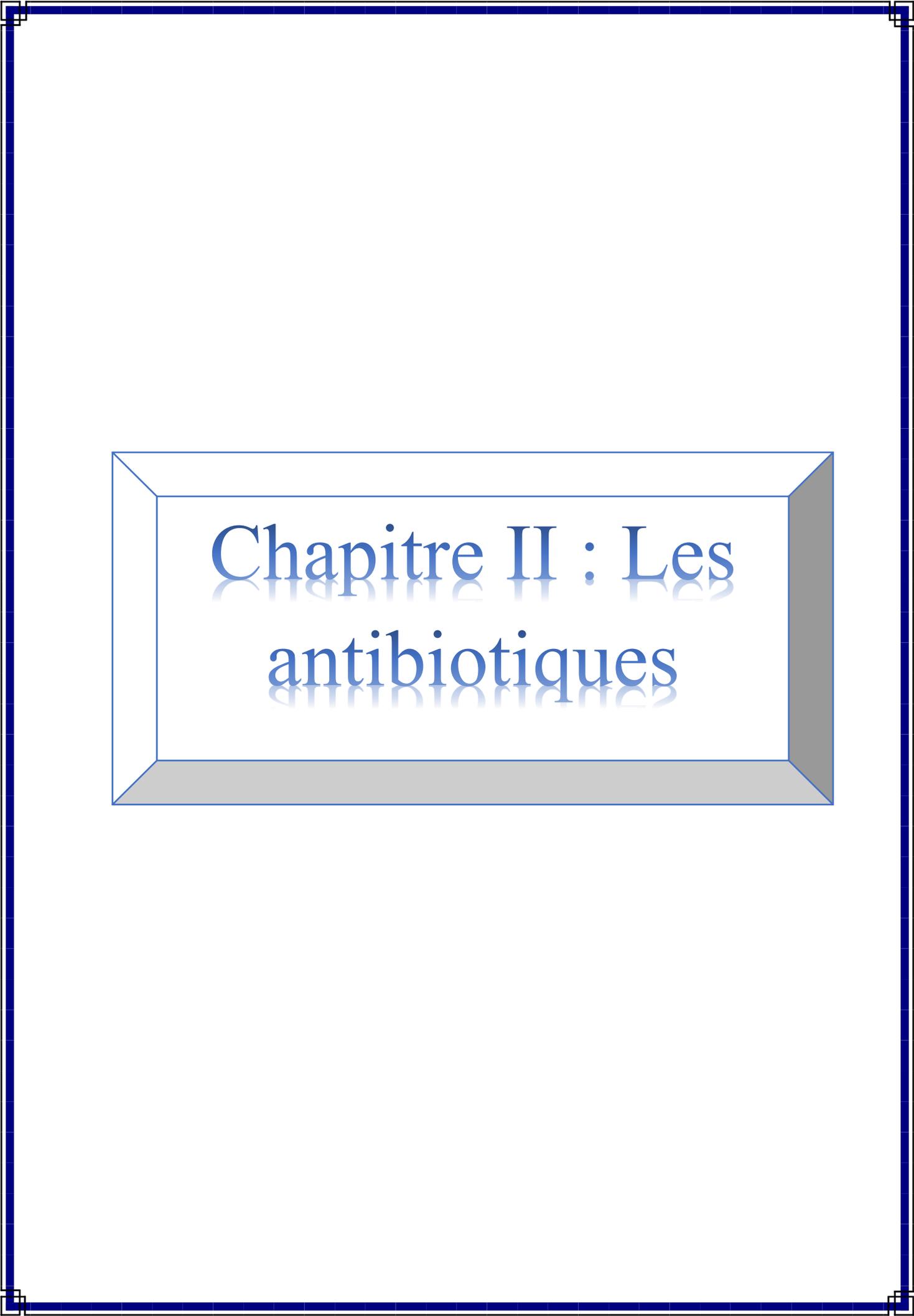
Figure 4 : Aperçu de la dynamique entre les patients (Dijkshoorn *et al*;2007 : les bactéries et l'environnement hospitalier

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Bactérie *Acinetobacter*

*Acinetobacter baumannii* pénètre dans les services par l'intermédiaire de patients colonisés, de matériels contaminés et de porteurs sains. Une fois dans un service, la maladie peut se propager à l'environnement et aux patients sensibles. L'environnement du patient peut être contaminé par des excréments, des gouttelettes d'air et des squames cutanées. *A. baumannii* peut bien survivre dans des environnements secs, ce qui en fait un réservoir pour sa propagation. Les mains du personnel hospitalier constituent la voie d'acquisition la plus courante d'*A.baumannii*, mais le mode de transmission exact est difficile à évaluer. (Dijkshoorn et al;2007)

Des études démographiques sur *Acinetobacter baumannii* montrent que les épidémies peuvent se propager entre les hôpitaux, avec quelques cas détectés aux États-Unis, au Royaume-Uni, au Portugal et en République tchèque. D'autres espèces d'*Acinetobacter*, peuvent également être impliquées dans des infections liées aux hôpitaux, représentant jusqu'à 50 % des infections dans des pays comme le Japon et la (Bonomo *et al*; 2006) Corée. *Acinetobacter* est un pathogène nosocomial majeur en Asie et au Moyen-Orient, responsable de plus de 36 % des pneumonies nosocomiales en Asie et de 1 à 2 % en France. En Tunisie, *A. baumannii* représente 12,2% de l'écosystème bactérien, avec des taux de colonisation et d'infection de 13,7 et 14,1 jours d'hospitalisation respectivement. (Rotini, 2023)



# Chapitre II : Les antibiotiques

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre II : Les antibiotiques

#### I. Définition

Les antibiotiques sont des substances produites par des champignons ou des bactéries, et qui sont capables de tuer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie).

Les antibiotiques sont des molécules à activité antibactérienne. Ils sont soit d'origine biologique ( $\beta$ -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides) semi synthétique ou synthétique (sulfamides, quinolones).

Ils agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèses protéique, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire (Balahouane, 2013)

Tableau 2 : Classes et premières années d'utilisation des principaux antibiotiques (Cardot et al;2019)

<b><i>Antibiotiques</i></b>	<b><i>Classe</i></b>	<b><i>Première année d'utilisation en santé humaine</i></b>
<i>p-aminophénylsulfamide</i>	<i>Sulfamides</i>	<i>1937</i>
<i>Pénicilline</i>	<i><math>\beta</math>-lactamines</i>	<i>1943</i>
<i>Streptomycine</i>	<i>Aminosides</i>	<i>1947</i>
<i>Tétracycline</i>	<i>Cyclines</i>	<i>1952</i>
<i>Méticilline</i>	<i><math>\beta</math>-lactamines</i>	<i>1960</i>
<i>Acide nalidixique</i>	<i>Quinolones</i>	<i>1964</i>
<i>Gentamicine</i>	<i>Aminosides</i>	<i>1967</i>
<i>Vancomycine</i>	<i>Glycopeptides</i>	<i>1972</i>
<i>Céfotaxime</i>	<i><math>\beta</math>-lactamines</i>	<i>1981</i>

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre II : Les antibiotiques

<i>Linézolide</i>	<i>Oxazolidinones</i>	2000
Daptomycine	Glycolipopeptides	2003
Ceftolozane-tazobactam	$\beta$ -lactamines	2017

## II. Les familles d'antibiotiques

Les principales classes d'antibiotiques sont (Cardot et al;2019)

**Les bêta-lactamines** :  $\beta$ -lactamines : sont un grand groupe de composés qui ont en commun un noyau cyclique  $\beta$ -lactame. Les sous-classes comprennent : Pénicillines, Céphalosporines, Monobactames, Carbapénèmes, Inhibiteurs de betalactamases (Michelow et McCracken, 2009).

**Les aminosides** : sont caractérisés par une structure centrale de sucres aminés reliés par des liaisons glycosidiques à un aminocyclitol dibasique, qui est le plus souvent la 2 désoxystreptamine. (Krause et al;2016)

**Les quinolones** : sont des hétérocycles avec une structure centrale bicyclique. Le groupement acide carboxylique en position 3 et le carbonyle en position 4 semblent essentiels à l'activité des quinolones. De plus, des substituants volumineux en positions 1 et 7 et/ou 8 jouent un rôle pertinent pour déterminer le spectre d'action (Fàbrega et al., 2009).

**Tétracycline** : Les molécules de tétracycline comprennent un noyau tétracyclique condensé linéaire (anneaux désignés A, B, C et D) auquel divers groupes fonctionnels sont attachés (Chopra et Roberts, 2001).

**Les sulfamides** : sont des composés amphotères, polaires, thermorésistants et photorésistants dérivés de l'acide 4-aminobenzènesulfonique (Bayan et Volkova 2021)

Souvent utilisé en association avec le triméthoprimine pour traiter un certain nombre d'infections, y compris celles des voies urinaires, des voies respiratoires et du tractus gastro-intestinale.

### III. Mode d'action et conditions d'activation des antibiotiques

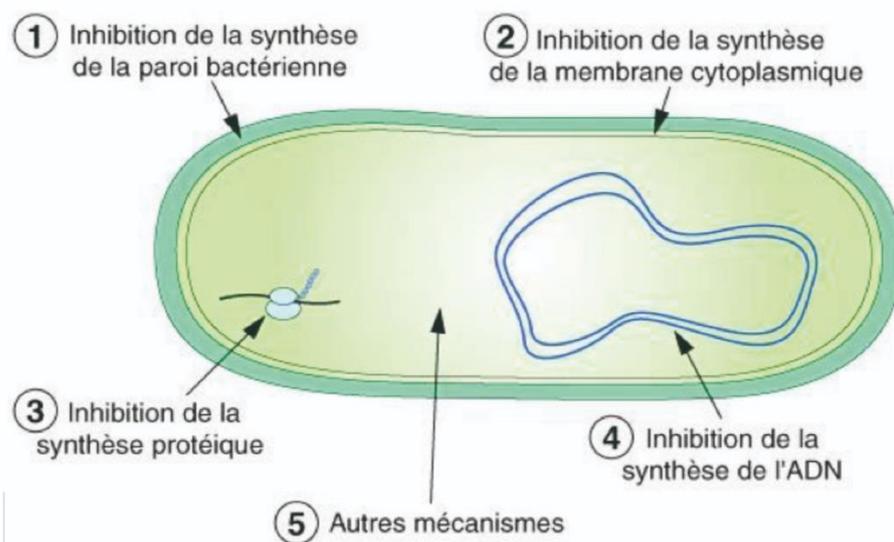


Figure.5: Mode d'action des antibiotiques (Bensegueni et Torche, 2020)

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactérie d'autre part. Pour être actif un antibiotique doit:

- pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne;
- ne pas être inactivé;
- être capable de se lier à sa cible.

Les antibiotiques ont été classés en fonction de leur mode d'action, on distingue:

- antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne;
- antibiotiques inhibant la synthèse des protéines;
- antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique. (Gaudy et Buxeraud, 2005)

Tableau 3: Mode d'action des antibiotiques

Cite d'action	l'antibiotique	effets	mode d'action
Action sur la synthèse du peptidoglycane (PG)	$\beta$ -Lactamines (Pénicillines, Céphalosporines, Carbapénème, Monobactam)	bactéricides	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ -Fixation aux PLP enzymes (transpeptidase), impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane.</li> <li>✓ Inhibition de la transpeptidation</li> <li>✓ Activation des autolysines</li> </ul>

**PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Chapitre II : Les antibiotiques**

			(élimination ou inactivation d'un inhibiteur de ces enzymes, qui sont des hydrolases).
	glycopeptides(Vancomycine teicoplanine)	bactéricides	✓ Inhibition de la synthèse du peptidoglycane formant des complexes avec les résidus peptidyl D Ala- D Ala des précurseurs du PG lorsqu'ils émergent de la membrane cytoplasmique.
	fosfomycine	bactéricides	✓ sur la pyruvate-N-acétylglucosaminyltransférase, enzyme permettant de constituer les précurseurs du PG
Altération de la paroi	polymyxines	bactéricides	✓ Destruction de la membrane comme un détergent.
Action sur la synthèse des protéines	Macrolides et apparentés	bactériostatique	✓ Liaison de façon réversible à la sous-unité 50S des ribosomes (site P) inhibant la transpeptidation la translocation.
	aminosides	bactéricides	Fixation sur la sous-unité 30S du ribosome. ✓ inhibition de l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation.
	chloramphénicol	bactériostatique	✓ Attachement à la sous-unité 50S (au site A) empêchant l'attachement des Amino acyl-RNA au site du ribosome.
	tétracyclines	bactériostatique	✓ Fixation réversible à la sous-unité 30S des ribosomes empêchant

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre II : Les antibiotiques

			<b>l'attachement des Aminoacyl- IRNA au site A du ribosome.</b>
<b>Action sur la synthèse des acides nucléiques</b>	<b>quinolones/fluoro-quinolones</b>	<b>bactéricides</b>	✓ <b>Inhibition de la réplication de l'ADN en antagonisant la sous-unité de la Byrase A</b>
	<b>rifampicine</b>	<b>bactéricides</b>	✓ <b>Bloque la transcription par la liaison à la sous-unité <math>\beta</math> de l'ARN-polymérase bactérienne</b>
<b>Action sur le métabolisme intermédiaire</b>	<b>cotrimoxazole</b>	<b>bactéricides</b>	✓ <b>inactivation d'enzymes impliquées dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels.</b>

(Lavigne, 2007).

# Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

#### I. Mécanisme résistance aux antibiotiques

##### 1. Intérêt de l'étude de la résistance aux antibiotiques :

L'intérêt est multiple :

- Il est d'abord clinique puisque ce type d'étude va permettre d'éviter les échecs au traitement.
- Il est aussi microbiologique puisque la connaissance des mécanismes de résistance aux antibiotiques guide vers un meilleur choix afin d'éviter de sélectionner des résistances.
- Il est enfin épidémiologique puisqu'on peut disposer de données statistiques sur les résistances, ce qui permettra d'adapter le traitement antibiotique à la bactérie responsable de l'infection

Comme les cibles moléculaires des antibiotiques sont présentes uniquement chez les bactéries, ces substances n'interfèrent pas avec la vie des cellules eucaryotes et n'ont pas d'effet sur les virus. (Ramdani *et al*, 2009)

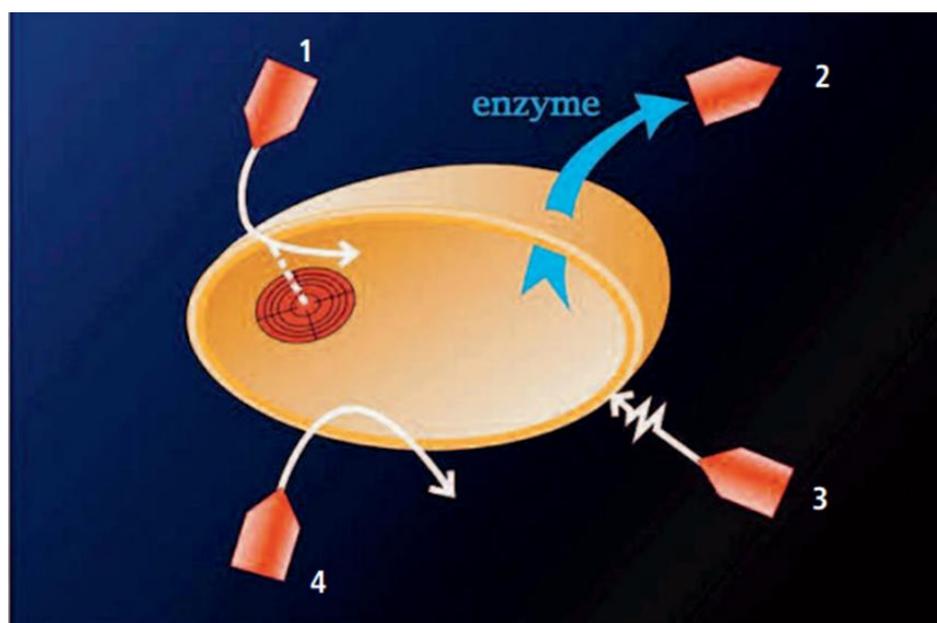


Figure 6: Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.

1-modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière ; 2-production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique ; 3-imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines chez les bacilles à Gram négatif ; 4-efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendantes (Patrice, 2008)

## PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

#### Résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antimicrobiens est une expression bactérienne aux antibiotiques et existe des définitions basées sur critères microbiologiques et cliniques. La résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, avec la référence à la sauvage et la clinique. La capacité de résistance ou sensibilité à la thérapie antimicrobienne est dépendante de paramètres telles que la localisation de la bactérie, le dosage et mode de ministration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire. Les situations où le composé ne peut pénétrer ou agir au site infectieux erzeugen un état de résistance clinique. (Guardabassi et Courvalin, 2006). (Figure 1)

il ya deux type :

#### ➤ **La résistance est soit naturelle soit acquise**

La résistance naturelle: La bactérie est d'emblée résistante à un antibiotique donné. Elle ne fait pas partie du spectre d'action de cet antibiotique. La résistance naturelle est spécifique d'espèce c'est-à-dire qu'elle concerne toutes les bactéries de la même espèce. Les mécanismes de la résistance naturelle peuvent être l'imperméabilité de la paroi bactérienne ou la synthèse d'enzymes naturelles chromosomiques.

#### Exemple:

- Pseudomonas et ampicilline.
- Proteus et colistine.
- Klebsiella et ampicilline.
- Anaérobies et aminosides.

Ces bactéries sont naturellement résistantes à ces antibiotiques.

#### La résistance acquise à un antibiotique:

Elle survient chez des bactéries qui étaient au départ sensibles à l'antibiotique car elles font partie de son spectre d'action. Le support de la résistance acquise génétique peut être chromosomique ou par acquisition de gènes. présenter par deux type :

#### **La résistance chromosomique et La résistance par acquisition de gènes**

##### ➤ La résistance chromosomique :

Elle survient suite à une mutation, entraînant généralement une modification des structures bactériennes. Cette modification peut consister en la synthèse d'une nouvelle porine inefficace dans le transport de la molécule antibiotique, rendant la bactérie imperméable à l'antibiotique.

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

Il peut y avoir modification de la cible de l'antibiotique qui peut être pariétale (cas de la PLP ou protéine liant la pénicilline) ou intracellulaire (cas du ribosome ou de l'ADN gyrase). Ces changements spécifiques rendent la bactérie indifférente à un antibiotique.

Le taux de mutation bactérienne est de  $10^{-6}$  à  $10^{-9}$

#### ➤ La résistance par acquisition de gènes :

C'est le mécanisme le plus fréquent. Les gènes acquis par la bactérie peuvent être portés par un plasmide ou un transposon. Ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines. Ces protéines interviennent dans la résistance bactérienne en modifiant la perméabilité à un antibiotique ou en inactivant l'antibiotique lui-même (cas des enzymes type bêtalactamases).

Il existe quelques antibiotiques pour lesquels le seul mécanisme de résistance est la mutation alors qu'aucune résistance par acquisition de gènes n'a été retrouvée: les rifamycines, les polypeptides et les furanes. Une bactérie peut être résistante à des antibiotiques par plusieurs mécanismes comme c'est le cas des bactéries isolées en milieu hospitalier, elles sont dites multirésistantes. (N.Ramdani, M.Seghier, R.Belouni, & A.Benslimani, 2009)

## II. Les types de mécanismes de résistances génétiques :

a. Inactivation enzymatique : Elle représente le mécanisme principal de la résistance aux bêta-lactamines, les aminoglycosides et les phénols par modification du noyau actif. En scindant ou en ajoutant un groupe d'installation de blocage chimique des antimicrobiens sur la cible ce qui provoque une perte d'activité.

b. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique : La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie

c. Pompes à efflux : L'efflux actif, par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autre médicaments.

#### d. Les intégrons et l'intégration :

Les intégrons sont des systèmes génétiques de capture, d'incorporation et de transformation en gènes fonctionnels, de fenêtres de lecture ouverte. Ils ne sont pas mobiles à

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

eux-seuls, mais ils sont souvent localisés sur des éléments génétiques conjuguative tels que les plasmides et les transposons.

*e. Les plasmides, la conjugaison et la mobilisation plasmidique* : Les plasmides conjugatifs sont des molécules d'ADN extra-chromosomique capables d'une réplication autonome régulée par eux-mêmes.

*f. La transformation* : Premier mécanisme de transfert d'ADN découvert chez les procaryotes, est impliquées dans l'acquisition de l'ADN d'une bactérie morte en cours de dégradation par une bactérie compétente se trouvent à proximité de cette dernière. En effet, lors de la mort d'une bactérie, l'ADN altéré, fragmenté et libéré, et qui contient éventuellement des gènes de résistance vis-à-vis de différents antibiotique, peut être récupéré par transformation et incorporé par recombinaisons dans le génome des bactéries compétentes présente dans le milieu (Muylaert et Mainil, 2012).

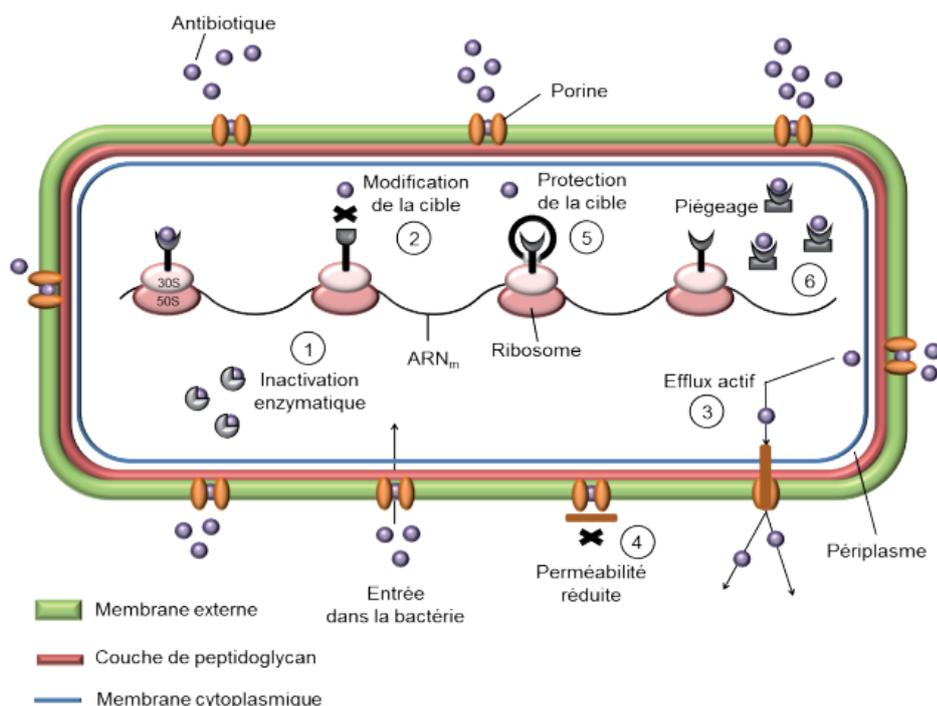


Figure 7 : différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de Guardabassi et Courvalin (2006)

:1- inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6:piégeage de l'antibiotique.

(Muylaeret et Mainil ;2012)

## PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

#### III. Gènes de résistance aux antibiotique

*Acinetobacter spp.* (espèces) (et *A. baumannii* en particulier) sont devenus résistants à de nombreuses classes d'antibiotiques. Premièrement, les *Acinetobacter spp.* semblent bien adaptées aux échanges génétiques et font partie d'une classe unique de bactéries gram-négatives décrites comme « naturellement transformables »

Éléments génétiques mobiles et séquences d'insertion; Il y a plus de 25 ans, il a été démontré qu'*Acinetobacter spp.* peut acquérir des facteurs de résistance aux antimicrobiens par conjugaison de plasmides. À l'heure actuelle, on sait que les transposons (éléments génétiques mobiles intégrés dans le chromosome ou portés par des plasmides) jouent un rôle important dans la dissémination des déterminants génétiques de la résistance chez *Acinetobacter spp.* . Beaucoup de ces transposons contiennent des intégrons (principalement de classe 1). Les intégrons sont des éléments génétiques qui, bien qu'incapables de se déplacer eux-mêmes (pour cela, ils doivent être portés sur un plasmide ou un transposon), contiennent un gène *int* et des cassettes de gènes qui peuvent être mobilisés vers d'autres intégrons ou vers des sites secondaires du génome bactérien. Comme chez d'autres bactéries à Gram négatif, un phénotype MDR chez *A. baumannii* se produit lorsque des déterminants de résistance à l'intégron contre différentes classes d'antibiotiques coexistent, donnant lieu à des cassettes de gènes MDR.

La sélection et la dissémination des éléments mobiles porteurs de ces gènes de résistance peuvent être amplifiées en milieu clinique par l'utilisation aveugle d'antibiotiques. La description des séquences d'insertion (SI) qui favorisent l'expression des gènes a également joué un rôle important dans l'explication de la régulation de la résistance. À titre d'exemple, la présence de l'élément ISAbal, qui a été identifié chez *A. baumannii* mais pas chez les Enterobacteriaceae ou chez *Pseudomonas aeruginosa* , entraîne une surexpression des bêta-lactamases de type AmpC et OXA-51/OXA-69 et une diminution des niveaux de sensibilité aux ceftazidime et aux carbapénèmes, respectivement (Federico Perez, 2007) .

La résistance aux carbapénèmes : est principalement due à l'acquisition et l'expression de gènes codant pour des  $\beta$ -lactamases de classe D à activité de carbapénémases (CHDLs) de types OXA-23, OXA-40, OXA-58 et OXA-143. Ces gènes sont souvent portés par des plasmides, facilitant leur dissémination. La surexpression des oxacillinasés naturelles de type OXA-51 peut aussi contribuer à cette résistance (Pierre-Etienne, 2016).

## PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre III : La résistance aux antibiotiques

Carbapenemase type	OXA carbapenemases
Acquired	
Chromosomal	OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-40, OXA-58 <sub>a</sub>
Plasmid	OXA-23, OXA-58 <sub>a</sub>
Naturally occurring	
OXA-51/69 like	OXA-64, OXA-65, OXA-66, OXA-68, OXA-70, OXA-71, OXA-78, OXA-79, OXA-80, OXA-82

OXA-58 a été décrite à la fois comme chromosomique et comme une carbapénémase médiée par les plasmides chez *A. baumannii*. Les données proviennent des références 17 et 152 (Federico Pérez 1, 23)

Tableau 4 : OXA carbapenemases en *Acinetobacter baumannii*

La résistance aux aminoglycosides : est principalement médiée par des enzymes modificatrices des aminoglycosides (EMA), notamment les phosphotransférases, les acétyltransférases et les nucléotidyltransférases. Des études ont montré que les gènes *aphA1*, *aphA6*, *aacC1*, *aacC2*, *aacA4*, *aadA1* et *aadB* sont présents dans des isolats résistants aux aminosides provenant de 13 pays. (Peleg et al;2008).

La résistance d'*A. baumannii* aux quinolones : est souvent due à des modifications de l'ADN gyrase et à des mutations dans les gènes *gyrA* et *parC*, ce qui entraîne une moindre affinité pour la liaison des quinolones au complexe enzyme-ADN (Peleg et al;2008).

Résistance aux tétracyclines; *A. baumannii* possède deux mécanismes de résistance aux tétracyclines : *TetA* et *TetB* qui sont des pompes d'efflux spécifiques médiées par transposon, et la protéine de protection ribosomique, qui protège le ribosome de la tétracycline. (Peleg et al;2008).



DEUXIEME PARTIE :  
MATERIELS ET METHODES

## DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

Dans cette partie nous verrons les matériaux et méthodes utilisés pour réaliser les antibiogrammes dans le cadre de notre étude.

### I. Matériel

#### 1. Type d'étude, durée et lieu

- Il s'agit d'une étude qui s'est portée sur la période allant du 3 mars jusqu'au 23 mai 2024.

-Ce travail a pour objectifs la sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter*.

-Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie la MAP.

#### 2. L'isolement

Les souches de d'A.baumannii ont été fournies gracieusement par la doctorante BOUAYAD Djazia ces souches proviennent de prélèvement clinique de l'EHU d'Oran.

#### 3. Matériel biologique

Anse de platine, bec benzène, boîtes de Petrie, tubes à essai, lame, milieu MacConkey, milieu Mueller Hinton, milieu BHIB, cuvettes, pipette, disques d'ATB.

### II. Méthodes

#### 1. Identification des *Acinetobacter*

Les souches ont été isolées sur gélose chromagar pour être identifiées par la technique Carte Vitek et Carte GN.

#### 2. La coloration de Gram

Il s'agit de la coloration de base en microbiologie. Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer en deux genres (Gram+ et Gram-).

Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme.

Protocole

- Étaler une goutte de suspension microbienne sur une lame

- Laisser bien sécher à l'air Recouvrir la lame avec du violet de Gentiane ; laisser agir 30s

Par-dessus ajouter le lugol 30s 20

- Éliminer les colorants et décolorer rapidement à l'alcool 30sec

- Rincer à l'eau pour arrêter la décoloration

- Recouvrir la lame de Fuchsine ou safranine 1 min

- Rincer à l'eau et laisser sécher à l'air (ou à la flamme)

- Observation à l'objectif X 100 avec l'huile à immersion.

## DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

### Principe

Après l'application du violet de gentiane et de la solution de lugol, il se forme un complexe coloré dans les cellules et toutes sont colorées en bleu-violet. Il existe une différence de perméabilité à l'agent de décoloration (alcool) entre la structure des parois des bactéries Gram+ et Gram- ce qui entraîne une différence dans la vitesse de dissolution des complexes formés. Ainsi, les bactéries Gram+ conservent leur coloration violette alors que les Gram- sont complètement décolorés. La dernière étape (fuchsine) constitue simplement une coloration de contraste afin de recolorer les bactéries Gram- en rose-rouge pâle.

### 3. Préparation des milieux de culture

Milieu de culture MacConkey :

-58gr de la poudre ont été dissous dans de 1L d'eau distillée ensuite mélangé jusqu'à dissolution complète du milieu.

-Le pH a été équilibré il a été moins que les proportions indiquées dans la boîte du milieu donc nous avons ajouté l'hydroxyde de sodium (NaOH)

-Le milieu a été coulé dans des flacons puis la stérilisation pour tuer tout micro-organisme présent et prévenir toute contamination.

-Le milieu a été coulé dans des boîtes de petri stériles et laisser solidifier puis les stocker dans le frigo



Figure 8 : le milieu MacConkey (photo personnelle)

## DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

### Milieu de culture Müller-Hinton



Figure 9 :Muller hinton photo personnalisé

-Le milieu BHIB (Brain Heart Infusion Broth) bouillon nutritif

-37g de poudre BHIB a été dissous dans 1L d'eau distillé.

Mesurez l'eau distillée ou déminéralisée et versez-la dans un flacon ou un erlenmeyer stérile.

-Le ph a été mesuré et ajusté.

-La stérilisation a été faite dans l'Autoclave pour éliminer les contaminants.

-Le milieu a été coulé dans des tubes puis on l'a conservé dans le frigo.

#### 4. Isolement et purification

Inoculation de la bactérie dans le milieu macConkey :

C'est une technique utilisée pour isoler et identifier des bactéries :

-Utiliser l'anse de platine ou des ou des pipettes pasteurs pour prélever une culture pure d'*Acinetobacter*

-L'ensemencement d'une petite quantité de cette culture sur la surface du milieu de MacConkey.

-L'incubation des boites à la température appropriée pour la croissance d'*Acinetobacter*, autour de 37°C et une durée de 24h.

Inoculation dans les tubes de BHIB :

## DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

Choisis une colonie d'Acinetobacter sur la plaque de MacConkey puis Introduis l'anse de platine ou la pipette pateur contenant la colonie et la transfère en remuant dans le bouillon nutritif.

Placez le tube dans un incubateur réglé à la température appropriée 37°C pour la croissance des bactéries.



Figure 10 : le tube BHIB (photo personnelle)

### 5. L'antibiogramme

C'est un outil crucial en microbiologie clinique et en infectiologie, utilisé pour déterminer la sensibilité ou la résistance d'une bactérie aux divers antibiotiques. Il joue un rôle important dans le choix des traitements antibiotiques et dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques.

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la technique de diffusion sur milieu gélosé.

- Cultiver les souches sur milieu BHIB.
- Préparer de l'eau physiologique.
- Sélectionnez les antibiotiques appropriés pour le test d'antibiogramme.
- Ajuster la densité optique entre 0,1 et 0,8(0,5Farland) afin d'obtenir une concentration de  $10^8$ .

L'ensemencement de la suspension bactérienne qui était dans le tube de BHIB dans le milieu Mueller-Hinton.

La disposition des disques d'antibiotiques sur la surface d'une gélose Mueller-Hinton.

L'incubation des plaques d'antibiogramme à une température de 37°C et une durée de 18 à 24 heures.

## **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

Après incubation, l'examinassions des zones d'inhibition autour de chaque disque d'antibiotique puis le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré après les mesures ont été reporté sur une grille d'interprétation des diamètres de zone pour chaque antibiotique testé.

L' interprétation des résultats selon les critères de sensibilité ou de résistance



**TROISIEME PARTIE :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## Résultats et discussion

### I. Isolement et purification

Les colonies d'*Acinetobacter* sont apparues sous forme de colonies transparentes sur le milieu de MacConkey (figure 11)



Figure11 : Aspect d'*acinetobacter* sur milieu MacConkey( photo personnelle)

### II. Les résultats de l'antibiogramme

Ces résultats ont révélé une variabilité dans la capacité des bactéries à résister aux antibiotiques, avec des souches présentant différents profils de résistance (figure 12). Ces résultats montrent l'importance de choisir judicieusement les antibiotiques pour traiter les infections, en tenant compte des profils de résistance spécifiques observés.

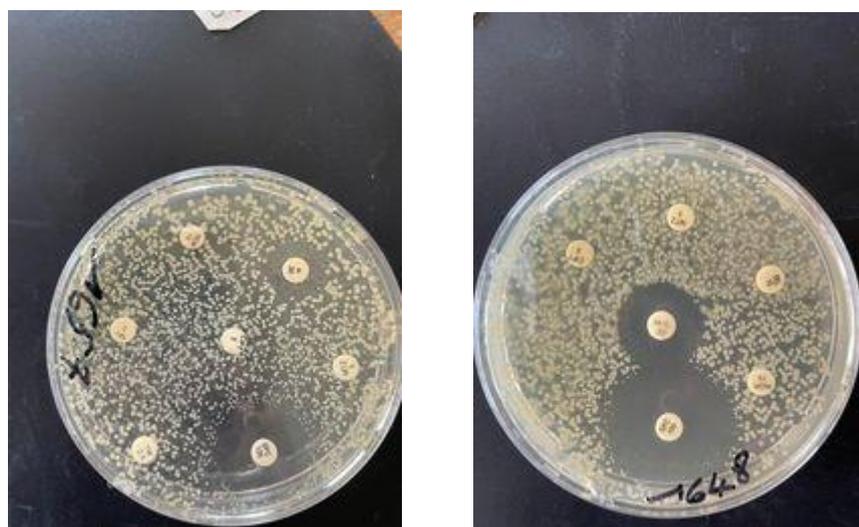


Figure 12 :Résultat d'antibiogramme( photo personnelle)

## Résultats et discussion

Chaque disque sur gélose mueller hinton représente un antibiotique spécifique. il y-a des zones sans croissance bactérienne, appelées zones d'inhibition, la taille de ces zones d'inhibition est mesurée pour déterminer l'efficacité de chaque antibiotique contre la bactérie *Acinetobacter*.

### III. Taux de résistance de la souche d'*Acinetobacter baumannii*

La spectomicine a été la molécule la plus active sur les souches d'*Acinetobacter* testé suivie par la norfloxacin qui a été active sur 95% ces deux molécules peuvent constituer une alternative très intéressante pour le traitement d'*Acinetobacter*.

L'amoxicilline a été active sur 85% des souches, cette molécule semble avoir un effet relativement considérable sur les souches testé.

Contrairement certaines molécules se sont caractérisé par une inefficacité totale (lyncomycin, ceftaroline, nitronidazole, cefalotine, teletromicine, piperacilline)

D'autres molécules ont montré une activité modéré vis-à-vis (la néomycine ,ceftriaxone, nitrofixine, enregistrant respectivement des taux de résistances 34% ,45% et 58%.

Tableau5 :Taux de résistance aux antibiotiques

ATB	Abréviation	Taux de résistances
Spectomicine	SPC	0%
Licomine	MY	100%
Néomycine	N	34%
Triméthoprim	TM	100%
Norfloxacin	NOR	5%
Ceftaroline	CPT	100%
Nitronidazole	MTZ	100%
Amoxicilline	AMC	15%
Tigécilline	TGC	50%
Céfalotine	KF	100%
Ceftriaxone	CRO	45%
Teletromicine	TEL	100%
Pipéracilline	PRL	100%
Nitrofixine	F	58%

## Résultats et discussion

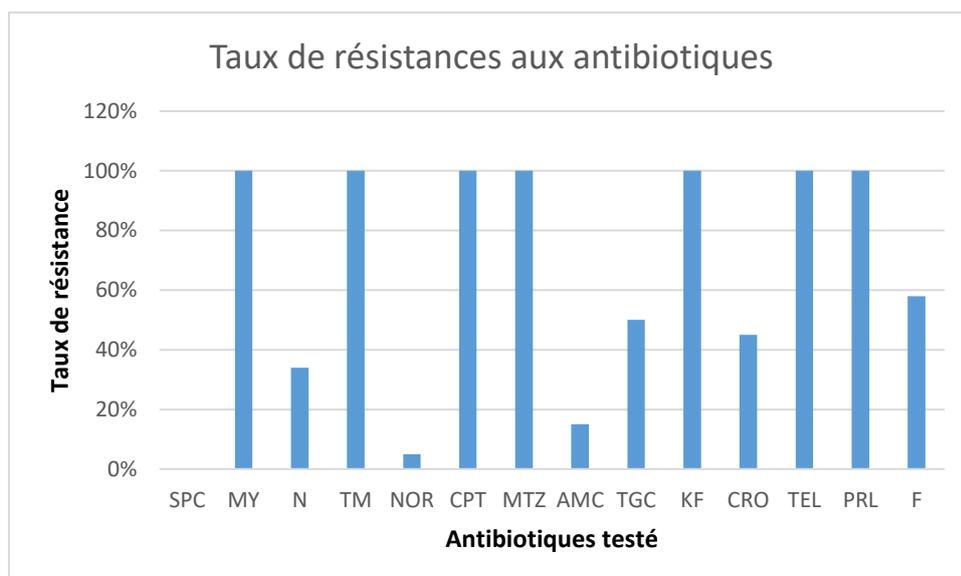


Tableau 6 : Les résultats montrent une variation dans les taux de résistance observés parmi les souches testées

	SPC	MY	N	TM	NOR	CPT	MTZ	AMC	TGC	KF	CRO	TEL	PRL	F
S1	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R
S2	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	S	R	R	R
S3	S	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	R	R	R
S4	S	R	S	R	S	R	R	S	R	R	I	R	R	R
S5	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R
S6	S	R	S	R	R	R	R	I	I	R	I	R	R	S
S7	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
S8	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R
S9	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R
S10	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
S11	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S

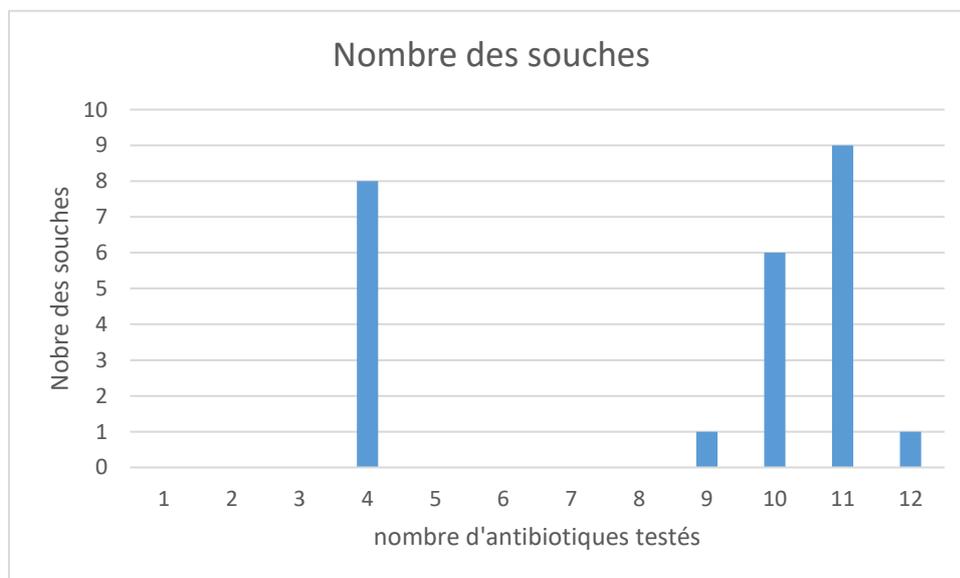
## Résultats et discussion

S12	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
S13	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
S14	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	S
S15	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
S16	S	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
S17	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
S18	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
S19	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
S20	S	R	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R

## Résultats et discussion

Les résultats indiquent que certaines souches se sont avérées multi résistantes, ils révèlent une variabilité importante, avec des souches résistantes à un seul antibiotique et d'autres à jusqu'à douze sur les quatorze testés. Cela suggère une diversité dans la capacité des souches à développer la résistance. Ainsi en moyenne 9 souches résiste à 11 molécules d'antibiotiques. Une souche est arrivée à résister à 12 molécules d'antibiotiques ce qui réduit considérablement l'éventail des molécules actives. Un pourcentage non négligeable de souche a résisté à 4 molécules d'antibiotiques. Ce phénomène de résistance à la fois récurrent et évolutif compromet de manière efficace les schémas thérapeutique et impose une réflexion sur le choix des molécules.

La résistance aux antibiotiques parmi les souches bactériennes testées



## Résultats et discussion

### IV. Discussion des résultats

Les résultats obtenus dans ce travail indiquent un taux de résistance d'environ 15% pour l'amoxicilline ces résultats sont inférieurs à ceux de Poirel et Nordman, (2006) 40,5%. Cependant des études plus récentes ont montré des pourcentages plus élevés (85%,90%) (Aboun *et al* (2017) Gilbert (2021)

Pour la Triméthoprine nous avons trouvé un taux de résistance de 100% ce taux demeure plus élevé par rapport à ceux de Aboun *et al*( 2017) (60%) et Varaldo (2002) 80%

Concernant la Ceftaroline notre résultat de (100%) correspond à celui de Ilami et khouyah (2023) 95% mais il reste très inférieur par rapport à ceux signalés par Johnson (2022) et Gilbert (2021) qui ont trouvé respectivement 40% et 70%. Cela suggère des différences dans les taux de résistance à ceftaroline entre les études.

Nous avons également trouvés un taux de résistance de 100 % pour Céfaloine tandis qu'Ilhami et khouyah (2023) mentionne également 95% et Graeme (2024) 75%. Cela montre une certaine cohérence avec d'autres études.

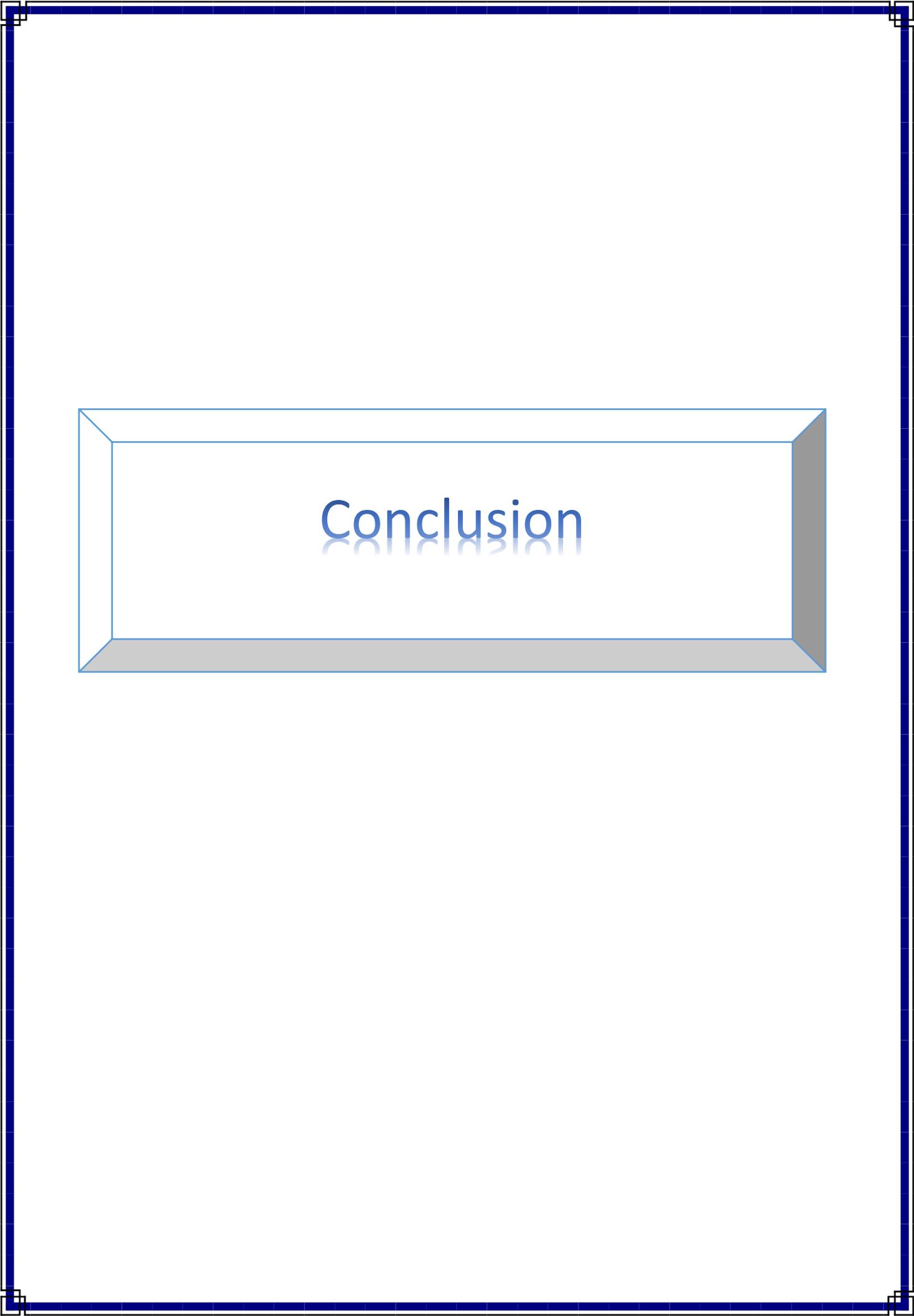
Pour la Tigécycline un taux de résistance de 50% a été enregistré tandis que (Garcia, 2022) rapporte 10%. Cette différence pourrait être en relation avec la fréquence d'utilisation de cette molécule

Avec un taux de sensibilité de 100% la Spectinomycine a été la molécule la plus efficace. Bien que ce taux est supérieur il se rapproche de celui rapporté par Diallo et al (2020) qui a mentionné un pourcentage de 90%.

Concernant la Norfloxacin un taux de résistance de 5% a été enregistré ce taux reste sensiblement inférieur à ceux signalé respectivement par Graeme (2024) et Poirel et Nordman, Auwaerter, (2021) 70% et 35%

Pour la Ceftriaxone nous avons trouvé un taux de résistance 45%, ce taux se rapproche de celui de Peter et al (2021) qui a enregistré 35% et reste inférieur de celui de Carmen et al (2018) 80%.

La piperaciline a été inactive sur la totalité des souches testé ce qui traduit l'inefficacité de cette molécule. il est tout de même à noter que ce taux reste supérieur à celui de Sader(2011)70%



# Conclusion

## Conclusion

Au terme de ce travail l'antibiogramme réalisé sur 20 souches a permis de mettre en évidence d'une remarquable diversité dans les profils de résistance. Certaines molécules tel que l'comicyne, triméthoprime, ceftaroline nitronidazole céfalotine téletromicine et piperaciline ce sont avérées inefficace sur les souches testé.

Cette résistance a été modérée vis-à-vis des tigéciline et ceftriaxone. Il est à signaler l'activité satisfaisante de la spectinomycine enregistrant un taux de résistance de 0 cette molécule a été la plus efficace suivie de la norfloxacine avec un taux de 5 ces deux molécules constituent une véritable alternative dans le traitement d'*Acinetobacter baumannii* en Algérie.

Ces résultats soulignent l'importance cruciale de surveiller et de comprendre l'évolution de la résistance bactérienne, particulièrement chez *Acinetobacter*, afin de guider efficacement les choix thérapeutiques et de prévenir la propagation de souches résistantes. Ce travail contribue ainsi à enrichir notre compréhension des défis croissants posés par la résistance aux antibiotiques.

Le cumule de ces résistance réduit de manière significative le choix des molécules efficace ainsi une des souches testée a présenté une résistance a douze molécules d'antibiotique cette multi résistance pourrait se compléter pour générer des souches totaux résistantes. Ces souches redoutables placent souvent les cliniciens dans des impasses thérapeutiques.

Ces résultats montrent que la fréquence des souches résistante augmente de façon inquiétante dans nos établissement et leur émergence représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène.

En perspectives de ce travail il serai souhaitable d'explorer le support génétique de cette résistance par les techniques d'amplifications en chaine. Un intérêt particulier doit être porté à

## Conclusion

l'épidémiologie moléculaire, en réalisant des typages tel que MLST ou un séquençage du génome entier afin d'évaluer la diversité génétique de cette bactérie.

## *Références bibliographiques*

- Poque, K. (2015). Infection caused by resistant gram negative bacteria.
- A. Bonomo, R., & Szabo, D. (2006, septembre). Mechanisms of multidrug Resistance in *Acinetobacter* Species and *Pseudomonas aeruginosa*. pp. S49-S56.
- Aboun, K.. (2010). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.
- Acinetobacter baumannii*. (2010, novembre 11). *Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif*, pp. 950 - 959.
- Alouane, T. (2022, Juillet 19). Analyse bioinformatique de l'organisation structurale et fonctionnelle des . *A. baumannii* : *bactérie pathogène opportuniste*. france. Récupéré sur <https://theses.hal.science/>
- Anton Y Peleg, H. S. (2008, juillet 1). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. Récupéré sur <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00058-07>
- Balahouane. (2013). Étude de la résistance aux antibiotiques des souches.
- Cardot Martin, D. P. (2019, Décembre 06). La résistance aux antibiotiques. Récupéré sur <HTTPS://PLANET-VIE.ENS.FR/THEMATIQUES/MICROBIOLOGIE/BACTERIOLOGIE/LA-RESISTANCE-AUX-ANTIBIOTIQUES>
- Carmen . Charlton, E. B. (2018). Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Viruses Causing Acute Respiratory Tract Infections.
- Diallo, S. A.-M. (2020). Antibiotic resistance surveillance systems.
- Dijkshoorn, L. N. (2007). introduction. *An increasing threat in hospitals:multiresistance Acinetobacter Baumannii*.
- Federico Perez 1, A. M. (2007, juillet 23). MÉCANISMES DE RÉSISTANCE À DES ANTIBIOTIQUES SÉLECTIONNÉS. *Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*.
- Federico Perez, A. M. (2007, Juillet 23). Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*.
- Figueiredo, S. (2012, octobre 18). *Acinetobacter spp. et réservoir de gènes de carbapénémases*.
- Garcia. (2022). Sensibilité des souches d'*Acinetobacter* à divers antibiotiques: résultats d'une étude de cohorte multicentrique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,.
- Giacomo Rotini . (2023, Avril 4). Étude épidémiologique des pneumonies aiguës communautaires sévères à *Acinetobacter baumannii* à La Réunion. Récupéré sur <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04058082>
- Gilbert. (2021). Le guide Sanford sur la thérapie antimicrobienne.
- Graeme. (2024). *Clinical Microbiology* .
- Ilami, M. K. (2023, Novembre 29). *Acinetobacter baumannii*: assesing susceptibility paterns.

- Johnson. (2022). Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter* en Europe: résultats d'une surveillance continue. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*.
- Jonathan Krause, B. S. (2016). L'efficacité déraisonnable des données bruyantes pour une reconnaissance fine.
- L'histoire des antibiotiques. (2009, Février 18). *Un peu d'histoire...* France. Récupéré sur <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/antibiotiques/antibiotiques-c-est-quoi/histoire.html>
- Lenie Dijkshoorn, A. N. (2007, Décembre 5). An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*.
- Muylaert, M. J. (2012, Juillet 09). Résistances bactériennes aux antibiotiques.
- N.Ramdani, M.Seghier, B., R.Belouni, & A.Benslimani. (2009, Octobre). Mannel de microbiologie.
- Patrice, C. (2008). La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques.
- Pérez, A. M. (2007, Juillet 23). Défi mondial posé par *Acinetobacter baumannii* multirésistant. *MÉCANISMES DE RÉSISTANCE À CERTAINS ANTIBIOTIQUES*.
- Peter J. Krause, P. G.-Y. (2021, JANVIER 15). Lignes directrices de pratique clinique de l'Infectious Diseases Society of America (IDSA) : Ligne directrice 2020 sur le diagnostic et la prise en charge de la babésiose.
- Pierre-Etienne, F. (2016). BACTÉRIES HAUTEMENT RÉSISTANTES (BHR).
- Poirel., N. (2006). Résistan in *Acinetobacter baumanii* mecanisme and epidemiology chemical microbiology and infection.
- Resplandy, D. F., & Cardenas, J. (2022, Octobre 26). Les antibiotiques : définition, indications et durée. *Quelles sont les familles d'antibiotiques ?* Récupéré sur [https://www.doctissimo.fr/html/medicaments/articles/sa\\_4085\\_antibiotiques.htm](https://www.doctissimo.fr/html/medicaments/articles/sa_4085_antibiotiques.htm)
- Rotini, G. (2023, Février 28). Étude épidémiologique des pneumonies aiguës communautaires sévères à.
- Sader, G. J. (2011). Contemporary activity of colistin and polymixin aganst the word wide collection of gram negetive pathogene.
- Smith, e. a. (2023). Surveillance de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter*: résultats d'une étude nationale. *Journal of Microbiology*.
- Torche, B. L. (2020). Pharmacologie spéciale.
- valogjea. (2013, Février 13). EOT-*Acinetobacter*-*Stenotrophomonas*. *classification*.
- Valado, P. .. (2002). Tests de résistance et de sensibilité aux antimicrobiens.