RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 072

ACINETOBACTER BAUMANNII, UNE BACTÉRIE MULTIRÉSISTANTE OPPORTUNISTE : ÉTAT DES LIEUX ET ÉTUDE DE L'EXPRESSION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA TRANSFORMATION BACTÉRIENNE

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 27 octobre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

CAMILLI Adrien

UNIVERSITÉ DE LYON

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 072

ACINETOBACTER BAUMANNII, UNE BACTÉRIE MULTIRÉSISTANTE OPPORTUNISTE : ÉTAT DES LIEUX ET ÉTUDE DE L'EXPRESSION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA TRANSFORMATION BACTÉRIENNE

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 27 octobre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

CAMILLI Adrien

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (14-09-2022)

Pr	ABITBOL	Marie	Professeur
Dr	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Dr	BECKER	Claire	Maître de conférences
Dr	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr	BENOIT	Etienne	Professeur
Pr	BERNY	Philippe	Professeur
Pr	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr	BUFF	Samuel	Professeur
Pr	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr	CHABANNE	Luc	Professeur
Pr	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
Dr	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Dr	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Pr	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Dr	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
Dr	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
Dr	GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Dr	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr	KODJO	Angeli	Professeur
Dr	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Pr	LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr	LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr	LEDOUX	Dorothée	Maître de conférences
Dr	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr	LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr	LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr	MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr	MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr	MOUNIER	Luc	Professeur
Dr	PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr	PIN	Didier	Professeur
Pr	PONCE	Frédérique	Professeur
Pr	PORTIER	Karine	Professeur
Dr	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Pr	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr	REMY	Denise	Professeur
Dr	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
Pr	ROGER	Thierry	Professeur
Dr	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr	SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr	SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Pr	VIGUIER	Eric	Professeur
Dr	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements au jury

À madame la professeure Sophie Jarraud

De l'université Claude Bernard Lyon 1, faculté de médecine de Lyon
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette soutenance.
Hommages respectueux.

À madame la docteure Maria-Halima Laaberki

De VetAgroSup, campus vétérinaire
Pour avoir accepté d'encadrer ce travail.
Pour son accompagnement durant toute la durée de cette thèse, au laboratoire comme à distance, et ses conseils avisés.
Pour sa réactivité, sa bienveillance et sa bonne humeur.
Sincères remerciements.

À madame la professeure Marie Abitbol

De VetAgroSup, campus vétérinaire
Pour avoir accepté de faire partie de ce jury.
Sincères remerciements.

Table des matières

Table des annexes **11**

Table des figures **13**

Table des tableaux **15**

Liste des abréviations **17**

Partie bibliographique : *Acinetobacter baumannii*, un agent multirésistant opportuniste **21**

1. *Acinetobacter* : caractéristiques générales 21
   - 1.1. Historique 21
   - 1.2. Caractéristiques microbiologiques 23
   - 1.3. Pathogénie 24
     - 1.3.1. Contexte d'infections 24
       - 1.3.1.1. En médecine humaine 24
       - 1.3.1.2. En médecine vétérinaire 27
     - 1.3.2. Types d'infections 28
       - 1.3.2.1. En médecine humaine 28
       - 1.3.2.2. En médecine vétérinaire 29
     - 1.3.3. Traitements 29
       - 1.3.3.1. En médecine humaine 29
         - 1.3.3.1.1. Colistine 31
         - 1.3.3.1.2. Tigécycline 32
         - 1.3.3.1.3. Sulbactam 33
         - 1.3.3.1.4. Fosfomycine 33
         - 1.3.3.1.5. Vers un consensus ? 34
       - 1.3.3.2. En médecine vétérinaire 35
   - 1.4. Prévention 37
   - 1.5. Perspectives 38
     - 1.5.1. Nouveaux antibiotiques 38
     - 1.5.2. Phages 39
     - 1.5.3. Vaccins 39
2. *Acinetobacter* et antibiorésistance 41
   - 2.1. Les principaux mécanismes 41
     - 2.1.1. Inactivation enzymatique 42
       - 2.1.1.1. β-lactamases 43
       - 2.1.1.2. Enzymes modificatrices des aminosides 45
       - 2.1.1.3. Monooxygénases 45

2.1.1.4. Macrolide 2-phosphotransferase 45
2.1.2. Modification de la cible.....46
2.1.2.1. Modification ribosomale par méthyltransférases à ARNr 16S 46
2.1.2.2. Modification ribosomale par protéines de protection ribosomale 47
2.1.2.3. Altération des sites de fixation des quinolones par mutations ciblées 47
2.1.2.4. Méthylation ribosomale et macrolides.....47
2.1.2.5. Modification du lipide A.....48
2.1.3. Modifications de la membrane.....48
2.1.3.1. Outer Membrane Proteins (OMP).....48
2.1.3.2. Pompes à efflux 49
2.2. Acquisition de la résistance par transfert horizontal de gènes 51
2.2.1. Les vésicules de membrane externe 52
2.2.2. La conjugaison 54
2.2.3. La transduction 56
2.2.4. La transformation 58
2.2.4.1. Définition, notion de compétence 58
2.2.4.2. État des lieux chez Acinetobacter.....60
2.2.4.3. Un mécanisme complexe.....62
2.2.4.3.1. Initiation de la transformation : le pilus de type 4, couteau suisse de la bactérie.....62
2.2.4.3.2. Fin de la transformation : internalisation dans le cytoplasme et recombinaison 68
2.2.4.4. Objectif de l'étude 70
Partie expérimentale : Étude des conditions de régulation de gènes de transformation chez *Acinetobacter baumannii*.....71
1. Matériel et méthodes.....71
1.1. Souches bactériennes utilisées 71
1.2. Composition des milieux 71
1.3. Construction des souches bactériennes 71
1.4. Expériences de transformation 73
1.5. Mesures de la cinétique de la fluorescence relative de la green fluorescent protein (GFP)... 73
1.6. Mise en évidence de l'activité β-galactosidase 74
1.7. Analyses statistiques.....74
2. Résultats.....75
2.1. Création d'une plateforme d'expression chromosomique chez *A. baumannii* 75

2.2. Analyse de l'expression des gènes de la transformation chez *A. baumannii* grâce à la CEP. 75
2.2.1. Fusions *lacZ* 76
2.2.2. Fusions *gfp* 77
2.3. Variation de l'expression de *pilA* selon le milieu 79
2.3.1. Variation de la composition nutritionnelle du milieu 79
2.3.2. Variation de la nature du milieu 81
2.4. Effet de la délétion du gène *comEC* 82
3. Discussion 84
Conclusion 89
Bibliographie 91
Annexes 111

Table des annexes

Annexe 1 : liste des souches bactériennes utilisées. **111**
Annexe 2 : composition des milieux utilisés **112**
Annexe 3 : oligonucléotides utilisés lors de cette étude **113**
Annexe 4 : composition de la plaque Biolog Gen III **116**

Table des figures

Figure 1 : arbre phylogénétique du genre *Acinetobacter* (issu de (17)). **22**

Figure 2 : images d'*A. baumannii American Type Culture Collection (*ATCC) 17978 en microscopie électronique en transmission (MET) (gauche) et à balayage (MEB) (droite) (issu de (19)). **23**

Figure 3 : image en microscopie électronique à balayage d'un biofilm d'*Acinetobacter baumannii* sur une sonde urinaire (x3000) (issu de (38)). **26**

Figure 4 : les différentes voies possibles d'infection nosocomiale par *Acinetobacter baumannii* (adapté de (47)). **27**

Figure 5 : Graphique de classement groupé fondé sur l'aire sous la courbe cumulative évaluant 12 thérapies pour trois paramètres différents lors de pneumonies à *A.baumannii* (issu de (87)). **35**

Figure 6 : Évolution des proportions de souches de *Escherichia coli* ayant un profil de résistance intermédiaire ou résistant à l'enrofloxacine ou à la marbofloxacine chez les bovins, porcs, volailles, chiens, chats et chevaux (2008-2020) (issu de (92)). **38**

Figure 7 : résumé des principaux mécanismes d'antibiorésistance chez les bactéries (adapté de (101)). **41**

Figure 8 : fonctionnement de la pompe à efflux AdeABC (adapté de (133)). **50**

Figure 9 : schéma représentant le mécanisme de transfert horizontal médié par des OMV (Camilli A). **52**

Figure 10 : image en MET d'une bactérie *A. baylyi* produisant une OMV (pointée par la flèche) (issu de (151)). **53**

Figure 11 : schéma représentant le mécanisme de conjugaison bactérienne (Camilli A). **54**

Figure 12 : photo en MEB d'un évènement de conjugaison chez deux bactéries *E. coli* (Issu de (153)). **55**

Figure 13 : schéma représentant la transduction bactérienne (Camilli A). **57**

Figure 14 : schéma représentant la transformation bactérienne (Camilli A). **58**

Figure 15 : les principaux signaux d'induction de la compétence chez les bactéries (issu de (170)). **59**

Figure 16 : fréquence de transformation (graphique du haut) et densité optique (graphique du bas) d'*A. baumannii* en fonction du temps (issu de (184)). **61**

Figure 17 : photographie en MET d'un pilus de type 4 de la bactérie naturellement compétente *A. baumannii* 07-095 (issu de (182)). **63**

Figure 18 : architecture générale du pilus de type 4 (adapté de (194,195)). **64**

Figure 19 : internalisation en deux temps d'ADN exogène dans le périplasme bactérien (Camilli A, adapté de (194)). **65**

Figure 20 : mécanisme de mobilité « twitching », médiée par un T4P (Camilli A) **67**

Figure 21 : intégration de l'ADN exogène dans le chromosome bactérien (Camilli A, adapté de (195)). **69**

Figure 22 : représentation schématique de la plate-forme d'expression chromosomique au site *att*Tn*7*. **75**

Figure 23 : détection des niveaux d'expression pour huit gènes de transformation fusionnés au gène *lacZ* sur un milieu de transformation solide supplémenté en X-Gal. **77**

Figure 24 : évolution de la fluorescence relative de huit gènes de la transformation fusionnés au gène *gfp* en milieu tryptone, en fonction du temps. **78**

Figure 25 : évolution de la fluorescence relative de la construction *pilA-gfp* dans divers milieux en fonction du temps. **80**

Figure 26 : changement de facteur de la fluorescence relative de *pilA-gfp* au pic d'expression dans un milieu tryptone complété par des composés d'un microarray phénotypique par rapport à la condition de contrôle. **81**

Figure 27 : évolution de la fluorescence relative des fusions *pilA-gfp* et *pilA-gfp* Δ*comEC* en milieu tryptone en fonction du temps. **83**

Table des tableaux

Tableau I : caractéristiques métaboliques des principales espèces d'*Acinetobacter* ((adapté de (20) et (21))). **24**

Tableau II : habitat identifié des principales espèces d'*Acinetobacter* non-baumannii (d'après (23)). **25**

Tableau III : sensibilité de diverses souches d'*A. baumanni*, multi drug resistant (MDR) ou non, à certains antibiotiques, entre 2013 et 2014 (d'après (72)). **30**

Tableau IV : profils de résistance d'*Acinetobacter* observés classiquement (d'après (73)). **31**

Tableau V : les principales enzymes présentes chez *A.baumannii* inactivant des antibiotiques. **42**

Tableau VI : principales protéines responsables de modifications de cibles présentes chez *A. baumannii*. **46**

Tableau VII : principales pompes à efflux présentes chez *A. baumannii*. **49**

Tableau VIII : quelques bactéries et les signaux activateurs de compétence qui leur sont associés **60**

Tableau IX : liste de gènes impliqués dans la transformation bactérienne étudiés **76**

Tableau X : maximums d'absorbance de la souche *pilA-gfp* dans quatre milieux différents. **80**

Tableau XI : maximums de fluorescence relative en milieu tryptone de souches porteuses de la fusion *pilA-gfp* dans un fond génétique sauvage et délété pour le gène *comEC*. **83**

Tableau XII : maximums de fluorescence relative des fusions *pilA-gfp et pilA-gfp* Δ*comEC* en milieu tryptone et MMA. **84**

Liste des abréviations

Acb : *Acinetobacter calcoaceticus - Acinetobacter baumannii*
ADN : acide désoxyribonucléique
AME : aminoside-modifying enzyme
AMM : autorisation de mise sur le marché
ANSES : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARN : acide ribonucléique
ATCC : american type culture collection
ATP : adenosine triphosphate
CEP : chromosomal expression platform
CRP : cAMP receptor protein
CMI : concentration minimale inhibitrice
DO_{600nm} : densité optique à 600 nm
ESBL : extended spectrum β-lactamase
ESKAPE : *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.
GES : Guyana extended spectrum β-lactamase
GFP : green fluorescent protein
GTP : guanosine triphosphate
IMP : imipénèmase
kDa : kilodalton
LB : lysogeny broth
LOS : lipo-oligosaccharide
MBL : metallo-β-lactamase
MDR : multi drug resistant
ME : membrane externe
MEB : microscopie électronique à balayage
MEC : milieu extracellulaire
MET : microscopie électronique en transmission
MI : membrane interne
MMA : milieu minimum acétate
NDM : New-Dehli métallo-β-lactamase
OMP : outer membrane protein
OMS : organisation mondiale de la santé
OMV : outer membrane vesicle
OXA : oxacillinase
PCR : polymerase chain reaction
PDR : pan drug resistant
PVA : pneumonie sous ventilation assistée
QRDR : quinolone-resistance determining regions
RBS : ribosome binding site
RND : resistance-nodulation-division

RPP : ribosomal protection proteins
SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline
SUCRA : surface under the cumulative ranking curve
T4P : pilus de type 4
THG : transfert horizontal de gènes
UA : unité arbitraire
UFC : unité formant colonie
VIM : Verona integron-encoded MBL
WT : wild type
XDR : extensively drug resistant

Introduction

L'antibiorésistance est la capacité de certaines bactéries à rendre inefficace l'action des antibiotiques. Cette capacité peut être naturelle (la bactérie, par sa structure et ses caractéristiques génétiques intrinsèques, n'est pas sensible à l'antibiotique) ou acquise (la bactérie a obtenu, via des modifications de son génome, des caractères de résistance aux antibiotiques).

Mise en évidence pour la première fois en 1940, soit 12 ans après la découverte de la pénicilline, le premier antibiotique, par Alexander Fleming, l'antibiorésistance est un phénomène étroitement corrélé à l'évolution des antibiotiques, auxquels de nombreuses bactéries ont désormais la capacité de s'adapter.

Un des principaux problèmes de l'antibiorésistance est l'impossibilité de traiter via des antibiotiques classiques des infections autrefois faciles à prendre en charge, ces molécules étant devenues inefficaces, ce qui représente un recul en médecine.

Ce phénomène est un enjeu majeur mondial de santé publique humaine : 1,27 million de personnes décèdent chaque année à cause d'infections à des bactéries résistantes (1), et l' organisation mondiale de la santé (OMS) considère aujourd'hui l'antibiorésistance comme étant l'une des dix plus grandes menaces pour la santé publique auxquelles se trouve confrontée l'humanité (2).

La santé animale n'est pas non plus épargnée : les animaux domestiques ou de rente sont en effet aussi exposés aux bactéries multirésistantes, d'une part par leur consommation d'antibiotiques, et d'autre part du fait de contaminations avec des bactéries humaines, ou de l'environnement, ayant développé des caractères de résistance.

Ainsi, dans une optique de réduction des antibiotiques en médecine vétérinaire, le ministère chargé de l'agriculture a établi en 2012 le plan EcoAntibio, promouvant un usage raisonné de ces molécules. Ce plan national quinquennal a été reconduit en 2017 sous le nom « EcoAntibio 2 ». De plus, l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), via son réseau Résapath, établit

chaque année depuis 1982 un état des lieux de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes isolées de l'animal.

Parmi les bactéries d'importance critique pour la recherche de nouveaux antibiotiques établie par l'OMS en 2017 figure, aux côtés des souches résistantes aux carbapénèmes de *Pseudomonas aeruginosa* et des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* résistantes aux carbapénèmes et céphalosporines de troisième génération, la bactérie *Acinetobacter baumannii* (3). Ce germe est considéré comme résistant à de très nombreux antibiotiques, si bien qu'il a été classé, avec cinq autres bactéries, parmi les agents pathogènes ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), des agents infectieux ayant un très fort taux d'antibiorésistance et causant des infections nosocomiales (4).

Responsable de deux à 10 % des infections nosocomiales en Europe et aux Etats-Unis (5), cette bactérie est extrêmement délicate à éradiquer, car elle présente à la fois une grande robustesse dans l'environnement et dans l'organisme. *A. baumannii* est en effet caractérisé par une importante capacité à acquérir des résistances via différents mécanismes, dont le transfert horizontal de gènes. Le traitement des surinfections à *Acinetobacter* chez les patients hospitalisés en soins critiques est un véritable enjeu, en particulier en temps de pandémie de maladie à coronavirus 2019.

L'objet de ce travail est de faire un état des lieux des infections par *A. baumannii*, y compris en médecine vétérinaire, dans un premier temps, puis d'étudier les mécanismes d'acquisition de caractères d'antibiorésistance par ces micro-organismes ainsi que leur support génétique. Ainsi, la partie expérimentale de cette thèse consistera en une étude de l'influence du milieu de développement de la bactérie sur l'expression d'un gène responsable de la transformation bactérienne, moteur de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques chez cette bactérie.

Partie bibliographique : *Acinetobacter baumannii*, un agent multirésistant opportuniste

1. *Acinetobacter* : caractéristiques générales

1.1. Historique

Les bactéries du genre *Acinetobacter* ont été découvertes en 1911 par le bactériologiste néerlandais Martinus Willem Beijerinck, qui les a d'abord isolées du sol et appelées *Micrococcus calcoaceticus* (6). Au cours des décennies suivantes, cette bactérie a été isolée à plusieurs reprises et ainsi porté divers noms comme *Moraxella lwoffi*, *Alcaligenes hemolysans*, *Mirococcus calcoaceticus*, et *Herellea vaginicola* (7).

Ce n'est qu'en 1954 que le nom d'*Acinetobacter* (du grec ακίνητο, « immobile » et βακτηρ « bactérie ») est proposé par Brisou et Prévot, afin de différencier les bactéries immobiles des bactéries mobiles du genre *Achromobacter* (7), même si cette dénomination n'est réellement reconnue qu'en 1968 à la faveur de travaux plus complets entrepris par Baumann et al. (8). En 1971, le genre est reconnu officiellement (9).

Les deux premières espèces officiellement décrites du genre *Acinetobacter* dans la « approved list of bacterial names » furent *A. calcoaceticus* et *A. lwoffi*, la première ayant la capacité d'oxyder le glucose, contrairement à la seconde (10).

De nombreuses nouvelles évolutions taxonomiques ont depuis été faites au gré des avancées des méthodes d'identification, notamment en 1986 par Philippe Bouvet et Patrick Grimont, qui mettront en évidence, via des techniques d'hybridation de l'acide désoxyribonucléique (ADN), 12 nouvelles espèces d'*Acinetobacter*, dont *Acinetobacter baumannii* (11).

Le genre *Acinetobacter* compte aujourd'hui 74 espèces différentes (**figure 1**) et est toujours sujet à des évolutions taxonomiques (12). De nouvelles espèces sont régulièrement décrites comme *Acinetobacter chinensis*, mise en évidence en 2018 dans les eaux usées d'un hôpital à Chengdu, en Chine (13).

La grande majorité des espèces pathogènes d'*Acinetobacter* font partie d'un groupe de six bactéries distinctes, le complexe *Acinetobacter calcoaceticus -A.baumanni* (Acb) qui, à l'instar du genre, s'est élargi au cours du temps. Ces espèces sont génétiquement proches entres elles et distinctes d'autres bactéries du genre *Acinetobacter* (14). Composé, à sa première formulation, en 1991, des bactéries *A. calcoaceticus*, *A. baumannii* et *Acinetobacter genomic species 3* et *13* (plus tard renommées *Acinetobacter pittii* et *Acinetobacter nosocomialis*, respectivement) (15), il s'est agrandi et inclut désormais les germes *Acinetobacter seifertii* (14) et *Acinetobacter dijkshoorniae* (16).

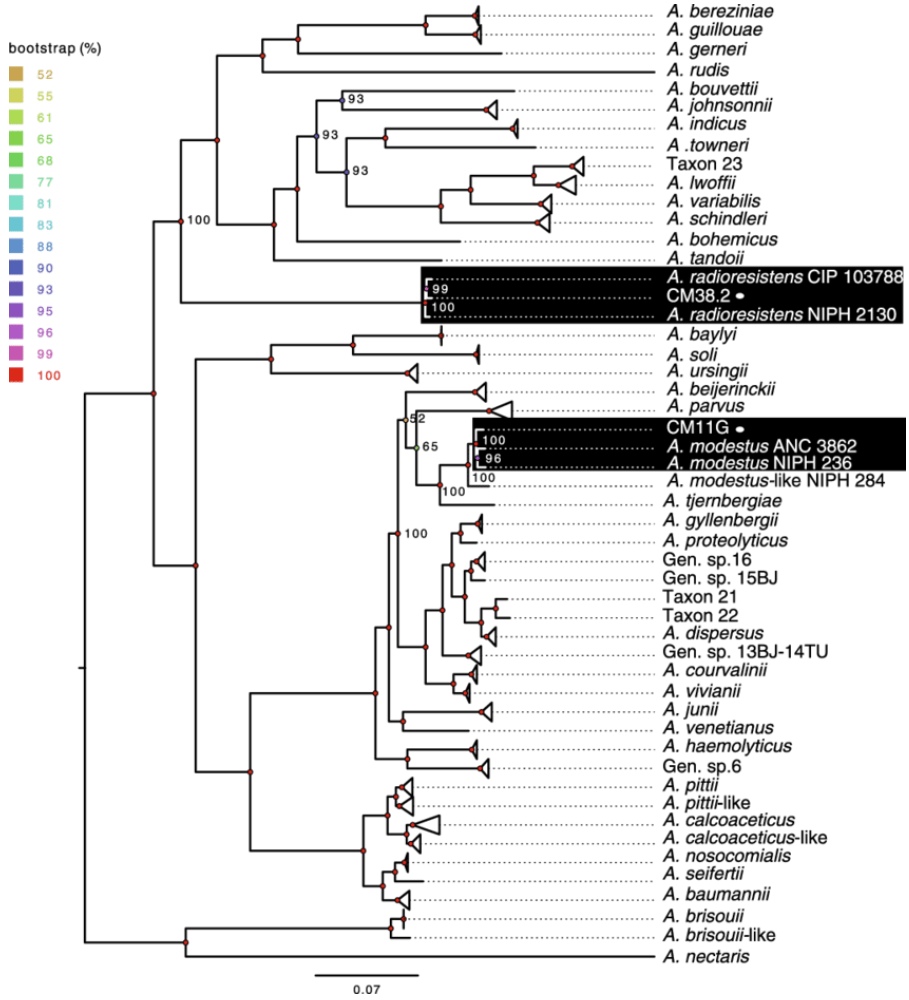

Figure 1 : arbre phylogénétique du genre *Acinetobacter* (issu de (17)).
Cet arbre est fondé sur l'alignement des familles de protéines du génome cœur. Les triangles correspondent aux taxons de même espèce. L'échelle correspond au nombre moyen de substitutions par site. *Bootstrap* : proportion de phylogénies simulées (sur 100), contenant le nœud en question.

1.2. Caractéristiques microbiologiques

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des coccobacilles Gram -, non mobiles, à métabolisme aérobie strict, catalase positives et oxydase négatives (18) (**figure 2**). Les espèces de ce genre peuvent différer par d'autres caractéristiques microbiologiques (**tableau I**).

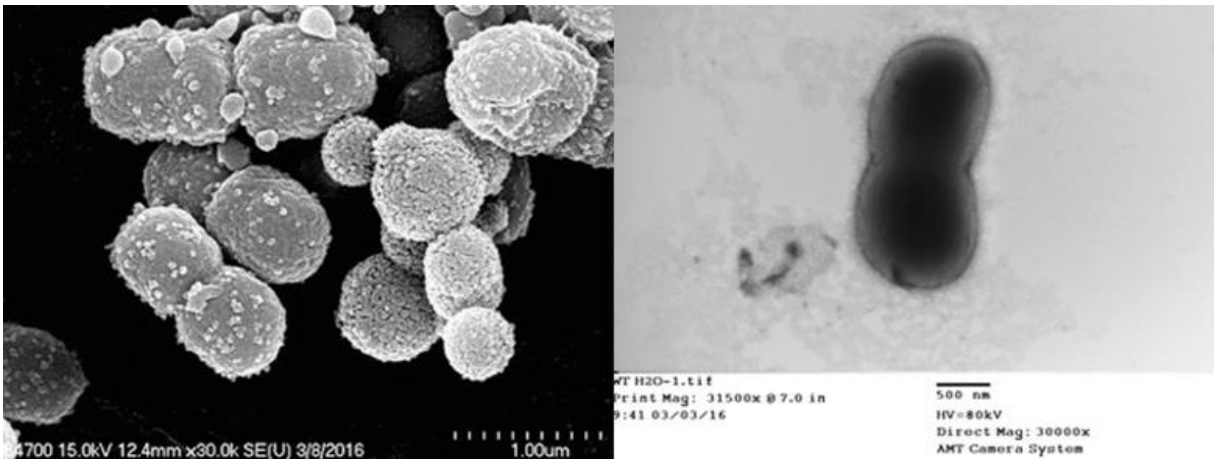

Figure 2 : Images d'*A. baumannii American Type Culture Collection (*ATCC) 17978 en microscopie électronique en transmission (MET) (gauche) et à balayage (MEB) (droite) (issu de (19)).

Tableau I : Caractéristiques métaboliques des principales espèces d'*Acinetobacter* ((adapté de (20) et (21))).

Espèce d'*Acinetobacter*	Croissance à (°C)		Catalase	Oxydase	Mobilité	Hémolyse	OF du glucose	Gélatinase	Arginase
	37	44							
Complexe Acb	+	+	+	-	-	-	+	-	+
A. lwoffii	+	-	+	-	-	-	-	-	-
A. junii	+	-	+	-	-	-	-	-	+
A. johnsonii	-	-	+	-	-	-	-	-	V
A. haemolyticus	+	-	+	-	-	+	V	+	+

OF : Oxydation/fermentation du glucose ; *V* : variable

1.3. Pathogénie

1.3.1. Contexte d'infections

1.3.1.1. En médecine humaine

Si le genre *Acinetobacter* comprend de nombreuses espèces, c'est la bactérie *A. baumannii* qui est responsable de la majorité des infections chez l'Homme. Cet agent seul est en effet retrouvé dans 85 à 90% des cas de bactériémie dues à *Acinetobacter*, les autres espèces pathogènes du complexe Acb ayant une moins grande incidence clinique (22).

Il est depuis longtemps établi que les espèces d'*Acinetobacter* autres que *A. baumannii* comportent de nombreux réservoirs extra-hospitaliers : on les retrouve dans l'environnement, dans les sols ou encore parmi la flore commensale de l'Homme (**tableau II**). Ces espèces sont considérées comme ubiquitaires (23).

Tableau II : habitat identifié des principales espèces d'*Acinetobacter* non-baumannii (d'après (23)).

Espèce d'*Acinetobacter*	Milieu	Pays	Référence
A. lwoffii	Boue	Allemagne	(24)
	Eaux usées	Danemark	(25)
	Eau	Danemark	(25)
	Produits de la mer	Danemark	(25)
	Animaux	Liban	(26)
	Légumes	Royaume-Uni	(27)
	Peau humaine	Hong Kong	(28)
A. junii	Boue	Allemagne	(24)
	Eaux usées	Danemark	(25)
	Eau	Croatie	(29)
	Animaux	Liban	(26)
	Sol	Chine	(30)
	Peau humaine	Hong Kong	(28)
A. johnsonii	Boue	Allemagne	(24)
	Eaux usées	Danemark	(25)
	Eau	Croatie	(29)
	Animaux	Liban	(26)
	Peau humaine	Hong Kong	(28)
A. haemolyticus	Eau	Croatie	(29)
	Peau humaine	Inde	(31)

Concernant *A. baumannii*, sa principale localisation — et la plus problématique — est le milieu hospitalier, qu'il s'agisse d'hôpitaux civils ou d'hôpitaux militaires provisoires déployés en zone de guerre. Cette bactérie est en effet responsable de nombreuses infections nosocomiales de différents types. Elle peut être la cause de véritables épidémies dans les hôpitaux, entrainant la fermeture de services de soins intensifs pour en nettoyer l'intégralité des équipements (32). Elle présente une grande capacité

d'adhésion et de survie sur diverses surfaces, telles les muqueuses respiratoires, urinaires ou gastro-intestinales (33) mais aussi le matériel médical, comme les cathéters intraveineux, les sondes urinaires (**figure 3**) ou encore les respirateurs artificiels (34). Cette résistance dans l'environnement lui vient de plusieurs mécanismes, comme la résistance à la dessication (35) ou encore la capacité à former des biofilms (36), permettant ainsi une meilleure protection aux agressions du milieu extérieur ainsi qu'une résistance accrue aux antibiotiques. La transmission manuportée est également souvent mise en cause dans les infections en milieu hospitalier (37).

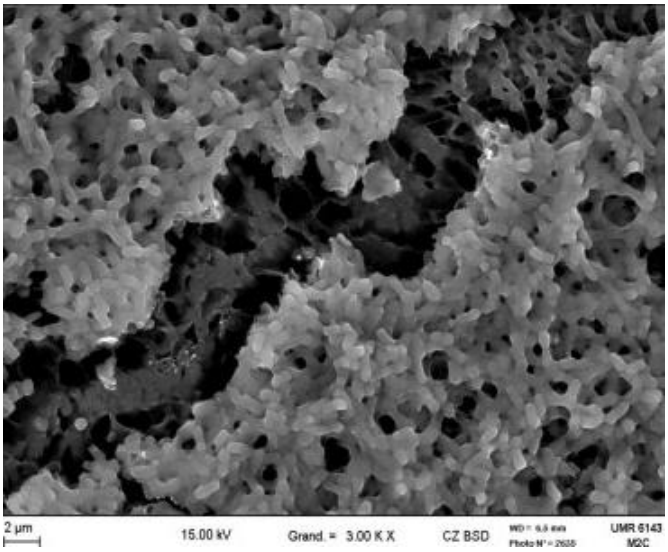

Figure 3 : image en microscopie électronique à balayage d'un biofilm d'*Acinetobacter baumannii* sur une sonde urinaire (x3000) (issu de (38)).

L'existence de réservoirs extra-hospitaliers d'*A. baumannii* a longtemps été discutée dans la littérature scientifique. Toutefois, à l'aide de nouvelles méthodes d'identification, *A. baumannii* a pu être identifiée sur la peau humaine (39,40), dans des selles (41), ou encore sur une très grande variété d'animaux, montrant ainsi que ces derniers pouvaient aussi constituer un réservoir de la bactérie (42). Cependant, il n'y a à ce jour aucune preuve de transmission biologique de l'animal à l'Homme et l'infection à *A. baumannii* n'est pas considérée comme une zoonose.

On retrouve également *A. baumannii* dans l'environnement : dans le sol (43), sur des légumes (27) et sur diverses surfaces, comme des tables dans des parcs ou encore des consoles de jeu (44). Le lien entre cette présence d'*A. baumannii* dans l'environnement et la fréquence des infections chez des soldats blessés à la guerre est toutefois discuté,

l'hypothèse d'une contamination des hôpitaux militaires déployés en zone de guerre étant en effet plus vraisemblable (45,46) (**figure 4**).

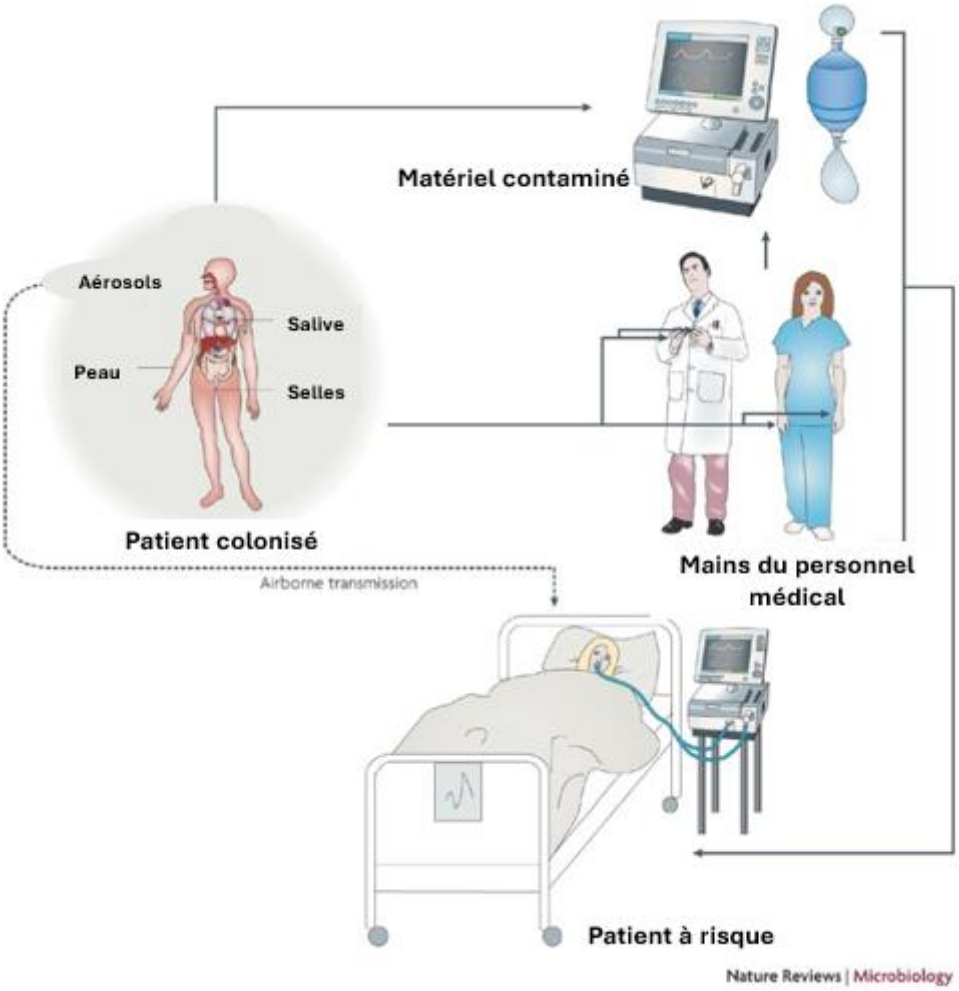

Figure 4 : les différentes voies possibles d'infection nosocomiale par *Acinetobacter baumannii* (adapté de (47)).

1.3.1.2. En médecine vétérinaire

En médecine vétérinaire, comme en médecine humaine, la plupart des infections à *Acinetobacter* sont des infections à *A. baumannii* (48), même si des infections à *A. pitii* et *A. nosocomialis* sont aussi décrites (49). S'il ne s'agit pas encore d'une menace aussi importante qu'en médecine humaine —sans doute parce peu d'attention est portée à cette bactérie en médecine vétérinaire— tout porte à croire que la prolifération de souches multirésistantes d'*A. baumannii* deviendra rapidement un problème de taille,

en particulier au sein des structures disposant de chenils d'hospitalisation pouvant accueillir de nombreux animaux.

En médecine vétérinaire, la plupart des infections répertoriées concernent des animaux de compagnie : chats, chiens et chevaux. À l'instar de la médecine humaine, c'est dans des structures hospitalières que la plupart des infections ont lieu. Le matériel médical est une source majeure de contamination (50,51), mais un passage cutané, via des plaies ouvertes, est aussi fréquemment décrit (50,52). En effet, il existe un portage sain d'*Acinetobacter* chez les animaux de compagnie (53). De plus, ces infections touchent préférentiellement des animaux ayant des comorbidités et un historique d'hospitalisation (52).

A. baumannii a également été retrouvé dans les selles de diverses espèces d'animaux de rente, comme les vaches (54,55) et les porcs (55).

Enfin, de nombreux autres animaux peuvent également être porteurs de ce coccobacille : lapins, furets, rats, mais également canards et serpents (56).

1.3.2. Types d'infections

1.3.2.1. En médecine humaine

A. baumannii est impliqué dans de nombreux types d'infections, en particulier nosocomiales. Des cas de pneumonies acquises chez les patients sous ventilation assistée (PVA) sont décrits et associés à une longue durée d'hospitalisation et/ou de ventilation mécanique. Un facteur augmentant significativement le risque d'infection est la fréquence élevée d'exposition aux antibiotiques, entrainant une résistance accrue de ce microorganisme (57). La contamination du matériel de ventilation est également mise en cause (58). Bien que cela soit rare, il est à noter que des cas de pneumonie ont également été décrits dans un contexte extrahospitalier, caractérisées par une évolution aiguë et associées à une bactériémie et un taux de mortalité variant de 40% à 60% (59).

Si les affections respiratoires nosocomiales à *A. baumannii* sont les plus significatives cliniquement, ce germe a aussi été isolé dans d'autres liquides biologiques : urine, sang, pus, liquide péritonéal (60) et est potentiellement responsable de nombreux autres

types d'infections nosocomiales, comme des infections urinaires (61) souvent liées à des sondes urinaires contaminées. Des endocardites (62) et des endophtalmies (63) sont également décrites, ainsi que des bactériémies. Ces dernières revêtent un taux de mortalité variant de 34 à 43,4% en structure de soins intensifs (64). Des cas de méningites post-chirurgicales après l'installation d'un drain extraventriculaire ont également été mis en évidence, avec un taux de mortalité allant jusqu'à 70% (65,66).

Enfin, des surinfections de brûlures (67) ou de plaies lors de blessures de guerre sont fréquemment observées (68).

1.3.2.2. En médecine vétérinaire

En raison du faible nombre d'études sur le sujet, il est difficile de classer par fréquence le type d'infections retrouvées chez les animaux. On retrouve toutefois *A. baumannii* impliqué dans des infections urinaires (50,69), des pyodermites (70), des fasciites nécrosantes (71) et autres plaies cutanées (50). Enfin, ce germe est également retrouvé lors d'infections liées au matériel médical contaminé, comme en médecine humaine : sondes urinaires, drains pleuraux (50), et sites de cathéters veineux (51).

1.3.3. Traitements

1.3.3.1. En médecine humaine

Le traitement antibiotique est la pierre angulaire de la prise en charge d'infections à *A. baumannii*. Selon le type d'infection, un traitement de soutien ou un traitement local peut-être nécessaire en plus du traitement antibactérien.

La prise en charge des infections à *A. baumannii* est extrêmement délicate. Cette bactérie arbore en effet des résistances contre de nombreux antibiotiques, aussi le nombre de molécules restantes dans la pharmacopée est limité. Le taux de sensibilité d'*A. baumannii* à divers antibiotiques est alarmant (**tableau III**). Ces faibles taux de sensibilité rendent impossible le traitement des infections à *A. baumannii* par ces

antibiotiques, ou alors impliquent d'augmenter leur dose, de modifier leur voie d'administration ou de les utiliser en synergie avec d'autres antibiotiques.

Tableau III : sensibilité de diverses souches d'*A. baumanni*, multi drug resistant (MDR) ou non, à certains antibiotiques, entre 2013 et 2014 (d'après (72)).

Continent	Nombre d'échantillons	% sensibles				
		IMP	CRO	CIP	SAM	TZP
Toutes les souches						
Afrique	65	18,5	12,3	27,7	18,5	16,9
Asie	405	26,9	19,5	21,2	22,7	22,0
Europe	201	11,4	5,5	4,5	11,4	5,5
A.baumannii MDR						
Afrique	53	1,9	0,0	15,1	3,8	0,0
Asie	311	4,8	1,0	0,6	2,9	2,9
Europe	188	5,3	1,1	0,5	6,4	0,5

IMP : imipenème ; *CRO* : ceftriaxone ; *CIP* : ciprofloxacine ; *SAM* : ampicilline/sulbactam ; *TZP* : piperacilline/tazobactam ; *MDR* : multi-drug resistant

Considérant le caractère multi-résistant de nombreuses bactéries du genre *Acinetobacter*, la réalisation d'un antibiogramme est indispensable avant d'entamer un traitement antibiotique. Selon les résultats de l'antibiogramme, différents profils d'*Acinetobacter* peuvent être obtenus, orientant alors le traitement antibiotique (**tableau IV**).

Tableau IV : profils de résistance d'*Acinetobacter* observés classiquement (d'après (73)).

Nom de la souche	Résistant à	Options thérapeutiques
Multi Drug Resistant (MDR)	• Pénicillines • Céphalosporines • Fluoroquinolones • Aminoglycosides	Carbapénèmes[a] Polymyxines (dont colistine)
Extensively Drug Resistant (XDR)	• *Mêmes antibiotiques de ci-dessus* • Carbapénèmes	Polymyxines (dont colistine) Tigécycline[a]
Pan Drug Resistant (PDR)	• *Mêmes antibiotiques que ci-dessus* • Polymyxines • Tigécycline	Associations d'antibiotiques

Le traitement de choix aux infections à *Acinetobacter* a longtemps été les carbapénèmes, mais l'apparition et le développement de souches résistantes à ces antibiotiques ont poussé les équipes médicales et de recherche à se tourner vers des alternatives thérapeutiques (49).

1.3.3.1.1. Colistine

La majorité des souches d'*Acinetobacter* y étant sensible, avec des taux de souches résistantes inférieurs à 1% (74), les antibiotiques de la famille des polymyxines, dont la colistine, sont une alternative thérapeutique fréquemment choisie. La colistine présente une activité bactéricide concentration-dépendante et est administrée par voie intraveineuse ou par inhalation. Elle présente toutefois une toxicité neurologique et rénale en cas de surdosage et d'administration conjointe à d'autres molécules, comme la rifampicine (49).

Les études concernant la colistine en monothérapie sont peu nombreuses. Certaines indiquent une plus grande efficacité lorsqu'elle est utilisée en bithérapie avec un autre antibiotique dans le cas de bactériémies à *A. baumannii* ultra-résistant aux antibiotiques (XDR) (72,2% de mortalité à l'hôpital en monothérapie contre 52,3% en association) (75) et d'autres n'observent aucune différence dans le taux de mortalité à 30 jours chez des patients atteints de septicémie causée par *A. baumannii* multi-résistant aux antibiotiques (MDR) (24,2% pour la bithérapie, 23,5% pour la monothérapie) (76). Une bithérapie avec de la colistine associée à la fosfomycine semble être aussi efficace que la colistine seule en termes d'évolution clinique et de mortalité à 28 jours, mais plus active dans l'éradication de la bactérie à la fin du traitement dans le cas d'infections diverses à *A. baumannii* XDR (77).

1.3.3.1.2. Tigécycline

Les études *in vivo* concernant la tigécycline sont également limitées, et les quelques travaux traitant de cet antibiotique n'ont pu aboutir à un consensus. En effet, une étude montre des résultats satisfaisants concernant le traitement avec de la tigécycline en monothérapie, notamment en comparaison avec la colistine utilisée seule ou en combinaison avec la tigécycline, chez des patients souffrant de diverses infections liées à *A. baumannii* (78).

Une autre étude n'a pas montré de différence dans la mortalité à 30 jours entre des patients ayant reçu de la tigécycline seule ou en association et ceux ayant reçu de l'imipenème et du sulbactam dans le traitement d'infections à *A .baumannii* XDR (79). La tigécycline semblait légèrement moins efficace que l'imipenème dans le cas de pneumonies nosocomiales, en particulier lors de PVA, dans une autre étude (80), et autant que le sulbactam, associé ou non à l'ampicilline chez des patients hospitalisés pour pneumonie nosocomiale liée à *A. baumannii* (81).

Ces études sont des études observationnelles, souvent rétrospectives, et il n'existe à ce jour malheureusement pas de réel consensus quant à l'efficacité de cet antibiotique (82).

1.3.3.1.3. Sulbactam

Le sulbactam, un inhibiteur de β-lactamase, constitue, lorsqu'il est utilisé en association avec de l'ampicilline et en grande concentration (27g/jour contre 12g/jour pour une dose standard), un traitement qui a su s'avérer aussi efficace que la colistine chez des individus atteints de pneumonie nosocomiale à *A. baumannii* XDR. En effet, les taux de réponse clinique étaient de 76,8% pour la combinaison ampicilline/sulbactam contre 73,3% pour la colistine (83). Une autre étude comparant cette association avec un traitement aux polymyxines (polymyxine B et colistine) a montré une efficacité supérieure de l'association ampicilline/sulbactam chez des individus atteints d'affections nosocomiales diverses à *A. baumannii* XDR (84).

Une étude montre également une efficacité similaire entre le sulbactam associé à l'ampicilline (93% de patients présentant une PVA guéris) et l'imipenème (83% de guérison) (85). Il s'agit du plus efficace parmi tous les antibiotiques inhibiteurs de β-lactamase (49).

1.3.3.1.4. Fosfomycine

La fosfomycine utilisée en monothérapie n'est pas active contre *A. baumannii*, mais une synergie *in vitro* a été démontrée entre la fosfomycine et le sulbactam (86). Une autre étude n'a pas prouvé de différence significative entre les taux de mortalité des patients atteints d'infections diverses à *A. baumannii* XDR traités à la colistine seule et ceux traités avec une thérapie à base de colistine et de fosfomycine, toutefois, le taux d'élimination des bactéries pathogènes était significativement supérieur pour le groupe colistine et fosfomycine (77).

1.3.3.1.5. Vers un consensus ?

Pendant longtemps, il a été très délicat d'établir un consensus quant au traitement des infections à *A. baumannii*. En effet, le faible nombre de publications, et le fait qu'elles portent sur différents types d'infections, différents antibiotiques, administrés à diverses doses rend difficile l'établissement d'un consensus car l'hétérogénéité entre ces études est trop importante.

Toutefois, en 2017, une méta-analyse bayésienne en réseaux a été réalisée afin d'établir un traitement optimal pour les pneumonies à *Acinetobacter*. Vingt-trois études évaluant 15 antibiotiques ont été analysées, en prenant la colistine en monothérapie (qui est généralement le traitement mis en place pour ce genre d'infections) comme traitement standard. Les nombreuses données de ces études ont été prises en compte afin d'établir une valeur fondée sur l'aire sous la courbe cumulative (SUCRA, surface under the cumulative ranking curve) indiquant la probabilité qu'un traitement soit le meilleur parmi l'ensemble des traitements testés pour différents paramètres (**figure 5**).

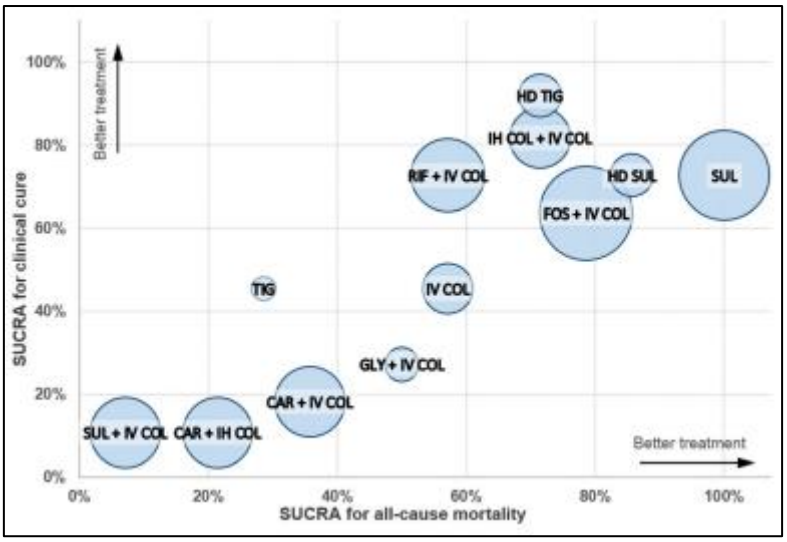

Figure 5 : Graphique de classement groupé fondé sur l'aire sous la courbe cumulative évaluant 12 thérapies pour trois paramètres différents lors de pneumonies à *A.baumannii* (issu de (87)).

Ici, la mortalité est présentée en abscisse, la résolution des symptômes de la pneumonie à la fin du traitement en ordonnée et l'éradication microbiologique correspond à la taille du cercle entourant le nom de l'antibiotique testé. Un traitement situé en haut à droite du graphique est plus efficace à la fois en termes de diminution de la mortalité et de résolution des symptômes. Une bulle plus large entourant le nom du traitement est associée à une meilleure efficacité en termes d'éradication de la bactérie à la fin du traitement. *COL* : colistine ; *FOS* : fosfomycine ; *GLY* : glycopeptides (vancomycine ou téicoplanine), *HD* : haute dose ; *IH* : par inhalation ; *IV* : par voie intraveineuse ; *RIF* : rifampicine ; *SUCRA* : surface sous la courbe cumulative ; *SUL* : sulbactam ; *TIG* : tigécycline

Ce graphique permet de dégager plusieurs traitements particulièrement intéressants pour la prise en charge de pneumonies à *Acinetobacter* : en premier lieu, le sulbactam en monothérapie semble être la meilleure alternative lorsqu'on prend en compte les trois facteurs du graphique ci-dessus. Il est suivi par le sulbactam à haute dose en monothérapie, puis la bithérapie à la fosfomycine et la colistine. Une monothérapie à base de colistine, à la fois par voie intraveineuse et par inhalation est également intéressante, tout comme la tigécycline à haute dose, en monothérapie.

1.3.3.2. En médecine vétérinaire

Il n'existe aucun standard de traitement en médecine vétérinaire, contrairement aux nombreux protocoles proposés en médecine humaine. Un traitement de soutien

demeure conseillé pour les animaux présentant des affections systémiques ainsi qu'une antisepsie adéquate lors d'infections cutanées.

La réalisation d'un antibiogramme dès lors que le germe a été identifié est fortement recommandé afin, si possible, d'éviter d'avoir recours à des antibiotiques critiques (48) dans le cas où la bactérie serait sensible à des antibiotiques classiques. Beaucoup d'antibiotiques utilisés en médecine humaine ne sont pas disponibles dans la pharmacopée vétérinaire (88), aussi le traitement de souches multi-résistantes est excessivement complexe chez les animaux.

La prise en charge des infections animales par *Acinetobacter* doit donc être d'une part non spécifique, avec un traitement de soutien, et d'autre part spécifique, via l'utilisation d'un ou plusieurs antibiotiques, en fonction des résultats de l'antibiogramme. Dans le cas de souches multi-résistantes, la colistine reste la solution de choix, les autres antibiotiques efficaces, qu'ils le soient seuls ou en association, étant interdits en médecine vétérinaire (88).

Cas de la colistine

Parmi les traitements proposés dans la partie « vers un consensus ? », seule la colistine est disponible chez les animaux. Trente-deux médicaments disposent actuellement d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) vétérinaire, très majoritairement pour les espèces de rente (89). Elle peut être utilisée comme traitement curatif ou préventif, principalement chez les jeunes animaux. Les principales indications sont les infections causées par les entérobactéries (90). Son utilisation a toutefois été restreinte en 2015 à la suite de la découverte d'un gène de résistance plasmidique à la colistine (*mcr-1*) (91) mais cet antibiotique n'est pas considéré comme critique en médecine vétérinaire. La faible proportion de souches résistantes à la colistine chez les animaux (92) pourrait en faire un candidat au traitement des infections animales à *A. baumannii* en dépit de sa toxicité (voir 1.3.3.1.1.).

1.4. Prévention

Etant donné le caractère quasi-ubiquitaire d'*A. baumannii* et sa très grande capacité de résistance dans le milieu extérieur, sur les surfaces et sur les animaux, la lutte contre cet agent infectieux dans le milieu hospitalier humain comme vétérinaire est délicate. Une hygiène rigoureuse, avec désinfections régulières des chambres (ou des cages, le cas échéant) à chaque changement, stérilisation de tous les instruments réutilisables, nettoyage minutieux des gamelles, couvertures, et tous les autres matériaux en contact avec les individus hospitalisés, y compris les casaques du personnel soignant, est de mise. L'hygiène des mains du personnel soignant est également de première importance, ce point semblant encore largement négligé dans certaines cliniques (93).

L'usage raisonné des antibiotiques est également primordial. De plus en plus de vétérinaires semblent prendre conscience de l'importance de l'usage correct des antibiotiques afin de combattre l'antibiorésistance (94). Les dernières données du Resapath, réseau d'épidémiosurveillance coordonné par l'ANSES, qui évalue l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France, sont encourageantes, avec une diminution considérable de nombreuses résistances, en particulier en filières aviaire et porcine (**figure 6**).

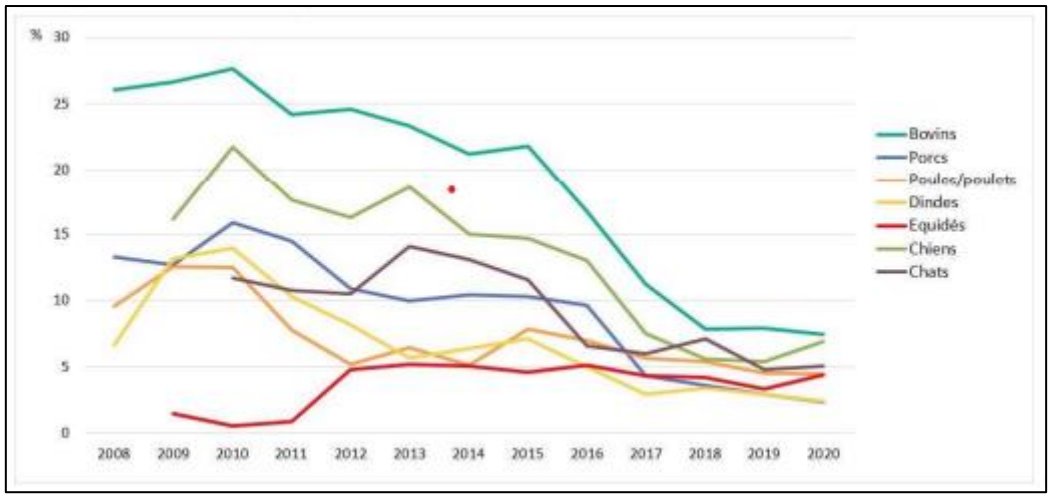

Figure 6 : Évolution des proportions de souches de *Escherichia coli* ayant un profil de résistance intermédiaire ou résistant à l'enrofloxacine ou à la marbofloxacine chez les bovins, porcs, volailles, chiens, chats et chevaux (2008-2020) (issu de (92)).

On observe ici une diminution de la proportion de souches d'*E. coli* résistantes à ces antibiotiques pour toutes les espèces animales, sauf les équidés.

1.5. Perspectives

1.5.1. Nouveaux antibiotiques

Plusieurs nouvelles molécules sont actuellement à l'étude et certaines sont en phase trois des essais cliniques, comme le céfiderocol, une céphalosporine qui a montré des résultats *in vitro* encourageants concernant les souches d'*A. baumannii* résistantes à la colistine et aux carbapénèmes (95).

L'eravacycline, un analogue de la tétracycline, montre également des résultats prometteurs *in vitro* et, en particulier, présente des concentrations minimales inhibitrices (CMI) inférieures à celles de la tigécycline (96). L'association du sulbactam avec le durlobactam, un autre inhibiteur de β-lactamase, est à l'étude (95)

1.5.2. Phages

La phagothérapie, découverte au début du 20ème siècle et longtemps abandonnée pour laisser place aux antibiotiques, est également à l'étude. En effet, avec l'augmentation de l'antibiorésistance chez de nombreuses bactéries, cette méthode a récemment refait surface. Ainsi, l'identification de bactériophages ciblant *A. baumannii* a commencé en 2010. Les essais cliniques sont peu nombreux et il existe de nombreuses contraintes à la phagothérapie, notamment le développement de résistances et la difficulté d'avoir des phages spécifiques à chaque souche bactérienne (97).

Parmi les phages mis en évidence, on retrouve ϕkm18p, de la famille des *Corticoviridae*, qui a été isolé des eaux usées d'hôpitaux de Taiwan. Ce phage possède un génome de taille moyenne (45 kilobases) codant pour un complexe protéique de 185 kilodaltons (kDa) permettant la lyse d'*A. baumannii* XDR. Une exposition de 30 minutes de ces bactéries avec le phage ϕkm18p permet en effet une réduction de la population bactérienne d'un facteur 10 000 en milieu liquide, et une amélioration du taux de survie de cellules épithéliales pulmonaires humaines in vitro (98).

Deux autres phages, Acibel004 et Acibel007, respectivement du genre *Myovirus* et *Podovirus*, se sont montrés actifs contre des souches d'importance clinique d'*A. baumannii*. Ils ont été isolés à partir d'eaux usées d'un hôpital de Belgique et leurs génomes sont de taille moyenne (100 et 43 kilobases, respectivement). Ils présentent une faible spécificité d'hôtes et peu de bactéries ont développé des mutations conférant des résistances à ces virus (99).

1.5.3. Vaccins

La mise en place d'un vaccin contre *A. baumannii* a été étudiée, en particulier après la pandémie de maladie à coronavirus, qui a entraîné une augmentation considérable du nombre de patients mis sous ventilation, accroissant donc le risque de PVA à *Acinetobacter*.

Plusieurs dizaines de vaccins sont aujourd'hui à l'étude (100). Ils sont de différents types : vaccins vivants atténués, fantômes bactériens, vaccins basés sur les vésicules de la membrane externe, vaccins à ADN, vaccins à sous-unités recombinants. Certaines études pré-cliniques concernant ces vaccins sont encourageantes. Les vaccins les plus efficaces à ce jour semblent être les vaccins multivalents (composés de plusieurs éléments de la bactérie) et comprenant des antigènes présents sur la membrane externe bactérienne (outer membrane protein, OMP) (100). Les vaccins seraient administrés en priorité aux militaires en opération extérieure, qui représentent sans doute la population la plus à risque. La vaccination des malades est délicate car il est difficile de prédire quel patient développera une infection nosocomiale à *A. baumannii*. Enfin, la vaccination du personnel soignant est discutable car la transmission dans les hôpitaux est principalement manuportée, ou via le matériel médical, aussi une prophylaxie hygiénique semble plus à même de combattre ce phénomène qu'une prophylaxie médicale.

2. *Acinetobacter* et antibiorésistance

Les bactéries du genre *Acinetobacter* disposent d'un arsenal extrêmement varié pour lutter contre les antibiotiques. De nombreux mécanismes leur permettent de contrecarrer efficacement ces molécules. Certains d'entre eux sont naturels, c'est-à-dire partagés par toutes les bactéries du genre. D'autres sont acquis : alors que la bactérie était initialement sensible à l'antibiotique, elle a développé, par le biais de mutations génétiques, une résistance lui permettant d'échapper à l'action d'un ou d'une classe d'antibiotiques. Ces résistances peuvent être disséminées parmi des bactéries via le transfert horizontal de gènes, un des moteurs de l'antibiorésistance.

2.1. Les principaux mécanismes

Quatre grands mécanismes sont classiquement impliqués dans la résistance aux antibiotiques (**figure 7**) (101).

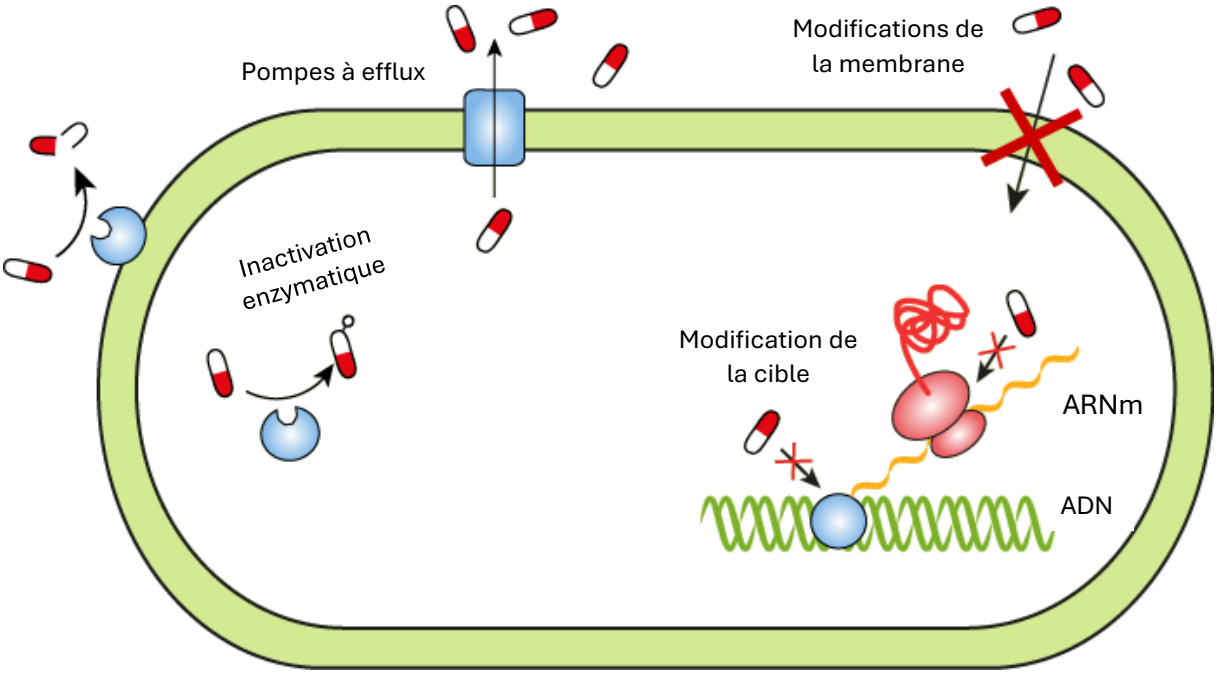

Figure 7 : résumé des principaux mécanismes d'antibiorésistance chez les bactéries (adapté de (101)).
La pilule rouge et blanche représente l'antibiotique et les autres formes géométriques les composants bactériens. *ADN* : acide désoxyribonucléique ; *ARNm* : acide ribonucléique messager

2.1.1. Inactivation enzymatique

L'inactivation enzymatique est un mécanisme consistant en une altération de l'antibiotique via des enzymes produites par la bactérie. De nombreuses enzymes sont présentes naturellement ou acquises par *A. baumannii* et lui permettent, via une modification structurelle et fonctionnelle des antibiotiques, de diminuer leur sensibilité à ces molécules. Les principales protéines à l'origine de ce mécanisme sont répertoriées dans le **tableau V**.

Tableau V : les principales enzymes présentes chez *A.baumannii* inactivant des antibiotiques.

Enzyme	Type	Exemple	Antibiotique ciblé
β-lactamases	Classe A spectre étroit	SCO-1	Pénicillines
	Classe A ESBL	KPC	Toutes β-lactamines
	Classe B	NDM	Toutes β-lactamines sauf aztréonam
	Classe C	ADC-30	Toutes β-lactamines
	Classe D	OXA-23	Toutes β-lactamines
Enzymes modificatrices d'aminosides		AacA34	Aminosides dont gentamicine
Monooxygénases		Tet(X)	Tétracyclines dont tigécycline
Macrolides 2-phosphotransférases		Mph(A)	Macrolides dont azithromycine

ESBL : extended spectrum beta-lactamase ; *SCO-1* : synthesis of cytochrome C oxidase 1 ; *KPC* : *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase ; *NDM* : New-Delhi β-lactamase ; *ADC-30* : *Acinetobacter*-derived cephalosporinase 30 ; *OXA-23* : oxacillinase 23 ; *AacA34* : aminoglycoside-(6′)-acetyltransferase 34 ; *Tet(X)* : flavin-dependant monooxygenase ; *Mph(A)* : macrolide 2′-phosphotransferase I

2.1.1.1. β-lactamases

L'exemple des β-lactamases est le plus connu et le plus ancien. Il a été mis en évidence dès 1940 (102), avant même que la pénicilline ne soit utilisée comme antibiotique, et consiste en la production d'une enzyme capable d'hydrolyser le cycle central à quatre atomes des antibiotiques de la classe des β-lactamines, les rendant inefficaces. Ce mécanisme est également présent chez *A. baumannii* et lui permet d'altérer divers antibiotiques comme les pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactams. Quatre classes de β-lactamases existent, selon la classification d'Ambler, et sont actives contre différents antibiotiques.

Aujourd'hui, *A. baumannii* est considérée comme naturellement résistante aux pénicillines et aux céphalosporines de première et deuxième générations car elle produit un très grand nombre de β-lactamases lui permettant de lutter contre ces antibiotiques (47).

Classe A

Les β-lactamases de classe A peuvent être à spectre étroit, c'est-à-dire actifs sur la pénicilline seulement. Cette catégorie de beta-lactamases est assez facile à contrecarrer par l'utilisation d'acide clavulanique, un inhibiteur de β-lactamase, en association avec une pénicilline. La β-lactamase à spectre étroit SCO-1 a été mise en évidence chez *A. baumannii* en 2007 (103).

Les β-lactamases de classe A à spectre élargi (ESBL, Extended Spectrum Bêta-Lactamase) sont également présentes parmi l'attirail d'*Acinetobacter* (104–106), permettant d'étendre la résistance aux céphalosporines et à l'aztréonam.

Classe B

Les β-lactamases de classe B, ou métallo-β-lactamases (MBL), utilisent le zinc ou un autre métal pour catalyser l'hydrolyse des cycles β-lactames (107). Elles résistent à tous les antibiotiques de la famille des β-lactamines sauf l'aztréonam. Elles sont également

insensibles à l'acide clavulanique. Quatre types de ces enzymes ont été découverts chez *A. baumannii* (108). Il est intéressant de noter que les MBL de type New-Dehli métallo-β-lactamase (NDM) sont préférentiellement exprimées chez *A. baumannii* car, contrairement aux autres MBL et en particulier VIM-2 (Verona Integron-Encoded MBL 2), elles produisent peu d'intermédiaires toxiques qui pourraient compromettre la croissance bactérienne (109).

Classe C

Les β-lactamases de classe C, ou céphalosporinases, codées par le gène *ampC*, sont présentes naturellement chez *A. baumannii*, comme chez la majorité des bacilles gram-négatifs. Afin de conférer une résistance, ce gène doit être surexprimé. La surexpression de cette céphalosporinase est permise, chez *A. baumannii*, par l'insertion d'une séquence d'insertion, ISAba1, en amont du gène *ampC* (110).Contrairement à ce que leur nom indique, leur action ne se limite pas aux céphalosporines et elles présentent un large spectre d'hydrolyse des noyaux β-lactames (111). De nombreux types de céphalosporinases ont été identifiés chez *A. baumannii* (112), dont ADC-30, qui hydrolyse les noyaux des céphalosporines mais également des carbapénèmes et du sulbactam (113,114).

Classe D

Ce type de β-lactamase, aussi appelé oxacillinase (OXA) est actif contre tous les types de β-lactamines, et largement distribué chez les bacilles gram-négatifs. Cette classe résiste à l'action des inhibiteurs de β-lactamase classiques comme l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam (115). Le gène chromosomique bla_{OXA-51} présent nativement et les éléments acquis bla_{OXA-23} et bla_{OXA-24} via la séquence d'insertion ISA_{ba1} semblent être les principaux impliqués dans la résistance aux carbapénèmes (116).

2.1.1.2. Enzymes modificatrices des aminosides

Selon Vázquez-López et al, 19% à 31% des espèces du complexe *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* sont résistantes aux aminosides (117). Un des mécanismes de résistance consiste en une inactivation de l'antibiotique de différentes manières, selon le type d'enzyme. En effet, il existe trois types d'enzymes modificatrices des aminosides (AME, aminoside-modifying enzymes) : les aminoside-acetyltransférases, les aminoside-phosphotransférases et les aminoside-nucléotidyltransférases, catalysant chacune une réaction différente. Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur de nombreux éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, et peuvent donc être transférés par transfert horizontal (118).

2.1.1.3. Monooxygénases

Comme décrit dans ce travail, la tigécycline est l'un des derniers antibiotiques utilisables dans le cadre des infections à *Acinetobacter*. Toutefois, un variant de gène conférant de la résistance à la tigécycline (*tet(X)*) a été découvert sur *A. baumannii*. Il code les protéines Tet(X3), Tet(X4) et Tet(X5), des monooxygénases qui peuvent inactiver les tétracyclines, y compris la tigécycline et l'eravacycline (119,120). Toutefois, un inhibiteur de ces enzymes, la plumbagine, a très récemment été découvert et pourrait, lorsqu'il est utilisé conjointement aux tétracyclines, inactiver les monooxygénases et améliorer l'efficacité du traitement (121).

2.1.1.4. Macrolide 2-phosphotransferase

Les macrolides sont des antibiotiques assez rarement utilisés dans la cadre des infections à *A. baumannii*. L'inhibition de la production de mucine par l'azithromycine est toutefois parfois mise à profit en plurithérapie lors de PVA (107).

D'une manière plus rare, les gènes *mph(A)* et *mph(E)* sont retrouvés chez certaines souches d'*A.baumannii*(122). Ces gènes codent les phosphotransférases Mph(A) et

Mph(E), qui inactivent les macrolides (érythromycine, clarithromycine, azithromycine et oléandomycine) par O-phosphorylation.

2.1.2. Modification de la cible

Les modifications de cible constituent un autre mécanisme fréquent d'antibiorésistance. La structure de la cible de l'antibiotique est modifiée par divers composés bactériens, diminuant ainsi leur efficacité. Les principales protéines à l'origine de ce mécanisme sont consignées dans le **tableau VI**.

Tableau VI : principales protéines responsables de modifications de cibles présentes chez *A. baumannii*.

Mécanisme	Support génétique	Antibiotique ciblé
Méthyltransférase de l'ARNr 16S	*armA*	Aminosides
Protéines de protection ribosomale	*tetM*	Tétracyclines dont minocycline
Mutation de la cible	*gyrA*	Quinolones dont ciprofloxacine
Méthyltransférase de l'ARNr 23S	*erm*	Macrolides
Altération du lipide A	*pmrC*	Polymyxines dont colistine

ARNr 16S : acide ribonucléique ribosomique 16S ; *armA* : aminoglycoside resistance methylase ; *tetM* : tetracycline resistance protein ; *gyrA* : DNA-gyrase subunit A ; *erm* : erythromycin resistance methylase.

2.1.2.1. Modification ribosomale par méthyltransférases à ARNr 16S

Un mécanisme présent chez de nombreuses bactéries, y compris *A. baumannii*, consiste en une modification du site de liaison par des méthyltransférases, rendant impossible la fixation des aminoglycosides sur l'acide ribonucléique ribosomique 16S (ARN_r 16s). Ces enzymes sont naturellement présentes chez certaines familles de bactéries, comme *Actinomyces*. Chez *A. baumannii*, ce mécanisme est acquis, le plus souvent par plasmide, et deux enzymes, ArmA et RmtB, ont été mises en évidence chez cette bactérie (123).

2.1.2.2. Modification ribosomale par protéines de protection ribosomale

Les protéines de protection ribosomale (RPP, ribosomal protection proteins) sont présentes sur une grande variété de bactéries et constituent un mécanisme majeur de résistance aux tétracyclines, avec les pompes à efflux. Elles compromettent l'efficacité des tétracyclines sur la synthèse protéique par une modification non covalente des ribosomes (124). Plusieurs familles de RPP existent, dont la famille TetM/TrtW/TetO/TetS, que l'on retrouve chez *A. baumannii*. Le gène *tetM* est responsable de la résistance (rare) d'*A. baumannii* à la minocycline, en délogeant la tétracycline de sa cible via un mécanisme guanosine triphosphate (GTP)-dépendant (125).

2.1.2.3. Altération des sites de fixation des quinolones par mutations ciblées

Les quinolones sont des antibiotiques ciblant l'ADN gyrase et l'ADN topoisomérase II et IV. La résistance d'*A. baumannii* à ces antibiotiques varie entre 50% et 73% (117). La coïncidence de plusieurs mutations dans des régions déterminant la résistance aux quinolones (QRDR, quinolone-resistance determining regions), en particulier concernant les gènes *gyrA* (codant pour la sous-unité A de la gyrase) et *parC* (codant pour la sous-unité C de la topoisomérase IV), est associée à une augmentation significative de la résistance aux quinolones et en particulier à la ciprofloxacine (126).

2.1.2.4. Méthylation ribosomale et macrolides

Le principal mécanisme de résistance aux macrolides est la méthylation ribosomale. Elle est médiée par les protéines de la famille Erm (erythromycin ribosome methylase), qui méthylent un résidu adénine dans l'ARN 23S, qui fait partie la sous-unité ribosomale 50S, cible des macrolides. De très nombreux organismes, cibles des macrolides,

expriment ces méthylases (127). Ce mécanisme est similaire à celui impliqué dans la résistance aux aminosides, évoqué précédemment, et confère une résistance à divers antibiotiques de la famille des macrolides.

2.1.2.5. Modification du lipide A

Les polymyxines, dont fait partie la colistine, l'un des traitements de choix dans le cadre des infections à *A. baumannii*, exercent une activité bactéricide en augmentant la perméabilité membranaire des bactéries. Le lipide A, à la surface des bactéries, est hydrophobe et interagit avec les lipopeptides des polymyxines. La modification de cette structure est l'un des mécanismes permettant aux bactéries d'échapper à l'action de ces antibiotiques.

Des nombreuses cascades enzymatiques peuvent mener à une modification du lipide A (107). L'une d'entre elles consiste en une mutation sur les gènes *pmrA* et *pmrB*, induisant l'hyperexpression du gène *pmrc* codant pour une phosphoéthanolamine transferase qui, après interaction avec le lipide A, entraine une suppression des charges négatives à sa surface et diminue ainsi l'affinité du lipo-oligosaccharide (LOS) *d'A. baumannii* avec les polymyxines.

2.1.3. Modifications de la membrane

2.1.3.1. Outer Membrane Proteins (OMP)

Les OMP sont des porines permettant la diffusion de petites molécules via le périplasme des bactéries gram-négatives (128). Elles possèdent de multiples rôles, mais sont principalement connues en tant que facteur de virulence et responsable d'antibiorésistance (129). OmpA, la principale porine non spécifique retrouvée dans *A. baumannii*, présente un rôle encore incertain dans le transport d'antibiotiques hors de la bactérie ; en effet, l'inactivation du gène *ompA* a permis de baisser la CMI de plusieurs antibiotiques comme le chloramphénicol, l'aztréonam et l'acide nalidixique (130). Une autre porine, AbuO, est impliquée dans de multiples fonctions dont l'efflux de certains

antibiotiques, comme la ceftriaxone et le méropénème (131). Le rôle de nombreuses autres porines est encore discuté, avec parfois des résultats contradictoires (107).

2.1.3.2. Pompes à efflux

Les principales pompes à efflux d'*A. baumannii* sont présentés dans le **tableau VII**.

Tableau VII : principales pompes à efflux présentes chez *A. baumannii*.

Famille	Pompe à efflux	Antibiotique cible	Références
RND	AdeABC	β-lactamines Carbapénèmes Fluoroquinolones Tétracyclines Aminosides Macrolides	(132–135)
MFS	Tet(B), abaF	Tétracyclines Fosfomycine	(136–138)
SMR	AbeS	Fluoroquinolones Erythromycine	(139,140)
ABC	MacAB-TolC	Macrolides	(141–143)
MATE	AbeM	Fluoroquinolones Gentamicine Erythromycine	(144,145)

RND : resistance-nodulation-division ; *MFS* : major facilitator superfamily ; *abaF* : *Acinetobacter baumannii* fosfomycin efflux ; *SMR* : small multidrug resistance ; *ABC* : ATP-binding cassette ; *MATE* : multidrug and toxic compound extrusion

Les pompes à efflux sont des protéines transmembranaires ayant le rôle de transporteurs actifs, permettant aux bactéries de rejeter toutes sortes de composés, dont des antibiotiques. Il existe de très nombreuses familles de pompes à efflux, permettant la résistance à divers antibiotiques. Elles agissent fréquemment en synergie avec d'autres mécanismes d'antibiorésistance (146). Contrairement aux mécanismes sus-cités, les pompes à efflux sont peu spécifiques : elles peuvent utiliser une quantité

variée de substrats. Il existe 5 types de pompes à efflux : resistance-nodulation-division, major faciltator superfamily, small multidrug resistance, ATP-binding cassette et multidrug and toxic compound extrusion.

Pompe à efflux AdeABC

La pompe AdeABC est la principale pompe à efflux chez *A. baumannii*. Elle fait partie de la famille RND, a été mise en évidence en 2001 (132) et se retrouve impliquée dans la résistance à de nombreux antibiotiques. Elle est composée de trois sous-unités : une protéine de membrane externe (AdeC), un transporteur permettant de relarguer les antibiotiques en dehors de la cellule (AdeB) et une protéine de fusion membranaire (AdeA) (133). Les antibiotiques peuvent être intégrés à la pompe soit lorsqu'ils sont dans l'espace périplasmique ou dans le cytoplasme bactérien. Ils sont ensuite relargués dans le milieu extracellulaire (**figure 8**).

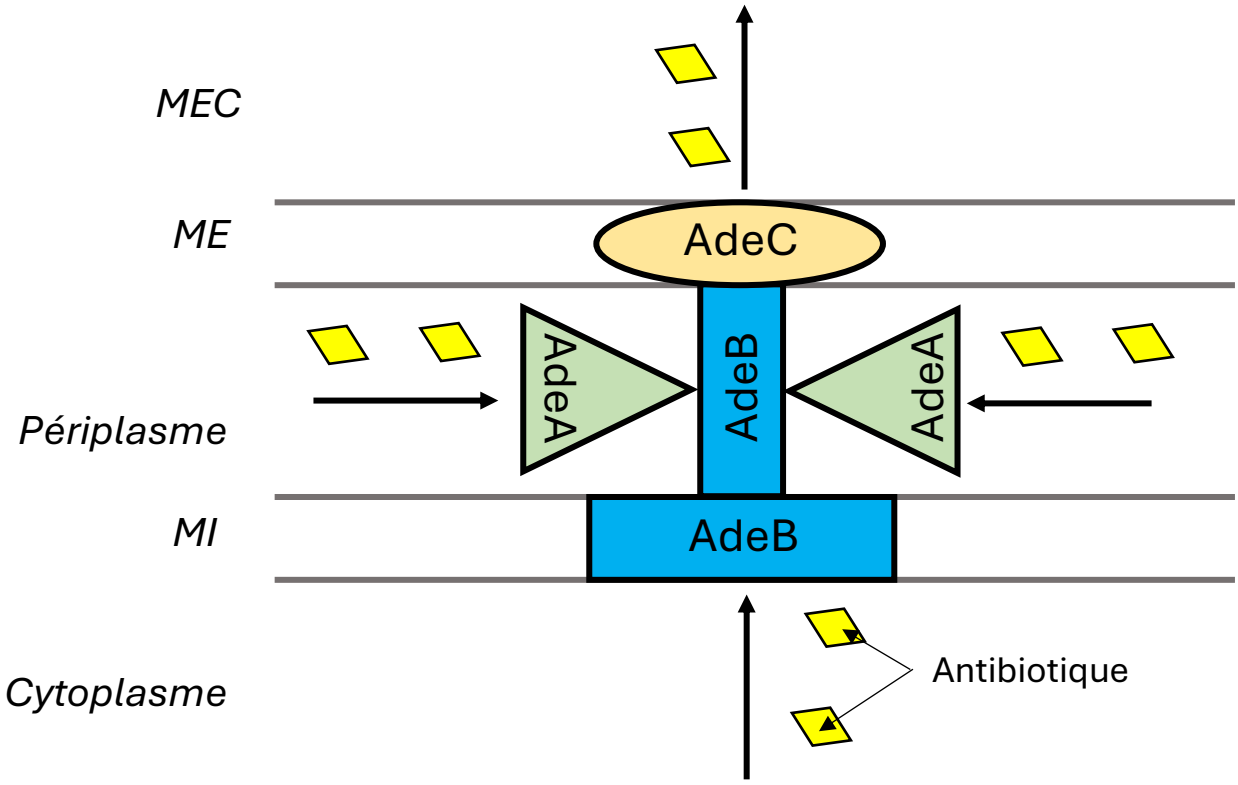

Figure 8 : fonctionnement de la pompe à efflux AdeABC (adapté de (133)).
Les antibiotiques présents dans le cytoplasme et/ou le périplasme passent la membrane interne et le périplasme par le transporteur AdeB avant d'être relargués dans le milieu extracellulaire. *MEC* : milieu extracellulaire ; *ME* : membrane externe ; *MI* : membrane interne

Les substrats de AdeABC sont variés ; ils peuvent être hydrophobes, hydrophiles, à charge positive ou neutre (132). On retrouve parmi eux les β-lactamines, les fluoroquinolones, les tétracyclines dont la tigecycline, les aminosides (dont la nétilmicine et la gentamicine pour lesquels la pompe AdeABC semble présenter une grande affinité), les macrolides et le chloramphénicol (133). Les carbapénèmes sont également affectés par cette pompe à efflux (134). Une inactivation de AdeB permet une diminution significative de la résistance à divers antibiotiques, aussi cette protéine pourrait constituer une cible thérapeutique future pour limiter l'antibiorésistance (135).

Ainsi, de nombreux mécanismes co-existent au sein des bactéries pour empêcher l'action des antibiotiques. Il s'agit maintenant d'étudier le support génétique de ces mécanismes.

2.2. Acquisition de la résistance par transfert horizontal de gènes

Le transfert horizontal de gènes (THG) permet aux bactéries d'acquérir rapidement des gènes de résistance aux antibiotiques. Contrairement au transfert vertical, qui consiste en l'acquisition de matériel génétique par un organisme via son ancêtre, le transfert horizontal correspond à l'intégration de matériel générique par un organisme provenant d'un autre organisme de la même génération. Le THG consiste en quatre grands mécanismes : les vésicules de membrane externe (OMV, outer membrane vesicle), la conjugaison, la transduction et, enfin, la transformation naturelle.

Aujourd'hui, parmi les 12 agents pathogènes sur la liste d'importance critique de l'OMS, huit sont avérés naturellement compétents, c'est-à-dire naturellement transformables, et trois sont supposés l'être (147), suggérant une importante contribution de ce mécanisme à la propagation de gènes d'antibiorésistance.

A. baumannii possède une plasticité extrêmement importante et ainsi une grande capacité à acquérir de l'ADN exogène. Les modifications génétiques (THG et mutations) sont si fréquentes chez cette bactérie que l'intégralité des souches prélevées pendant

un an dans un hôpital américain étaient uniques par leur génome (148). La littérature concernant les THG chez *Acinetobacter* est relativement limitée et surtout cantonnée à l'importance de ce mécanisme dans l'acquisition de résistance aux carbapénèmes, même si de rares publications font état d'acquisition génétique par THG chez d'autres antibiotiques. Les quatre types de THG ont été décrits chez cette bactérie (149).

2.2.1. Les vésicules de membrane externe

Les vésicules de membrane externe sont des bourgeons sphériques de petite taille (de 50 à 250 nm de diamètre) issus de la membrane externe des bactéries, qui sont relarguées dans le milieu extérieur et peuvent intégrer d'autres bactéries pour y transmettre du matériel génétique (**figure 9**).

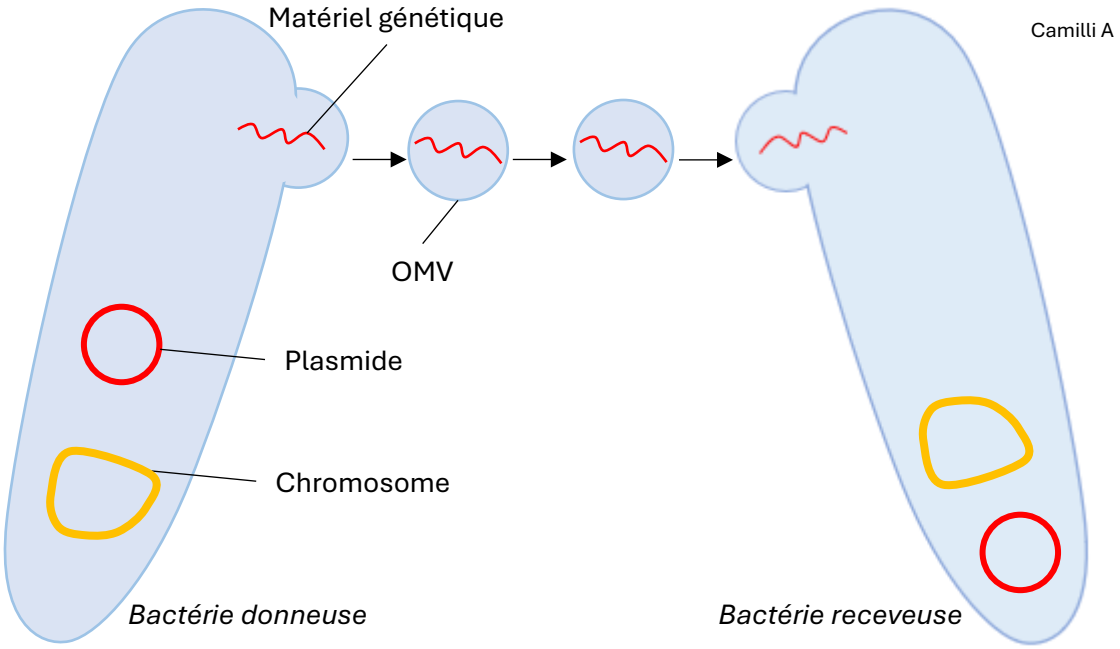

Figure 9 : schéma représentant le mécanisme de transfert horizontal médié par des OMV (Camilli A).

Du matériel génétique est exporté d'une bactérie dans une vésicule qui fusionnera avec la membrane plasmique d'une autre bactérie, permettant ainsi l'intégration de ce fragment d'ADN dans le génome de la bactérie receveuse.

OMV : outer membrane vesicle

Elles sont communes chez les bactéries Gram-négatives et sont constituées de contenu périplasmique. Elles sont à l'origine de fonctions diverses, permettant le transfert de facteurs de virulence entre autres, mais aussi associées à la survie de la bactérie en conditions de stress, et au transfert de gènes d'antibiorésistance (150,151) (**figure 10**).

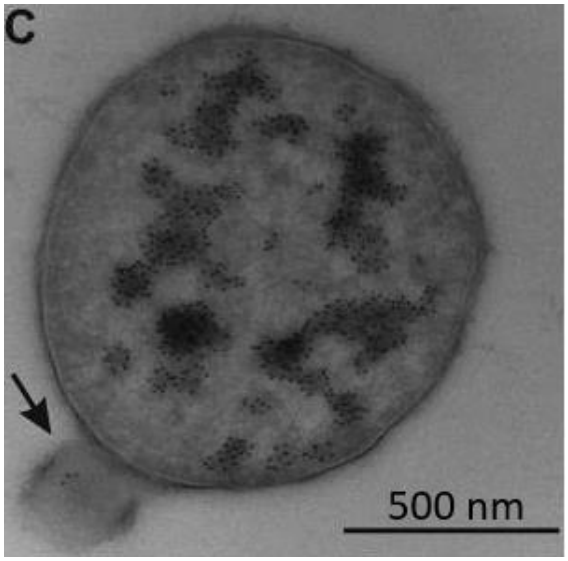

Figure 10 : image en MET d'une bactérie *A. baylyi* produisant une OMV (pointée par la flèche) (issu de (151)).

Les points noirs sont des particules d'or liées à des anticorps anti-ADN double brin, révélant ainsi la présence d'ADN au sein de la vésicule (technique Immunogold).

Chez *Acinetobacter*, leur rôle dans la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques fait l'objet de peu d'études, mais a quand même été observé par Rumbo et al (152). En effet, des OMV contenant le gène bla_{OXA-24}, porté par un plasmide d'une souche d'*A. baumannii* multirésistante, ont été découvertes. Celles-ci peuvent transformer des souches d'*A. baumannii* sensibles aux carbapénèmes qui, après intégration dans leur chromosome du plasmide portant ce gène, y deviennent résistantes (152).

D'une manière intéressante, il a été observé que l'exposition à de faibles concentrations d'antibiotiques, comme la gentamicine et le chloramphénicol, entrainait, chez une

souche d'*A. baylyi*, des modifications de la membrane externe permettant d'accroitre la quantité d'OMV relarguées. Ces modifications consistent en une augmentation du nombre de sites relarguant des OMV mais aussi une production de vésicules plus grosses (151).

2.2.2. La conjugaison

La conjugaison bactérienne est un mode de THG qui consiste en la transmission de matériel génétique (plasmidique ou chromosomique) entre deux bactéries via contact direct, par l'intermédiaire d'un pilus conjugatif (**figures 11 et 12**).

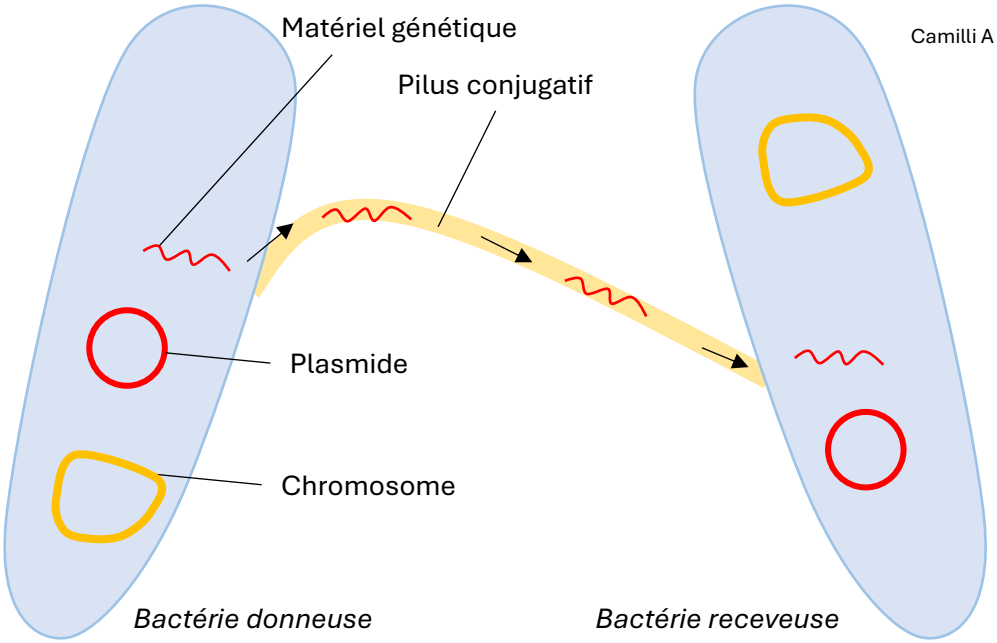

Figure 11 : schéma représentant le mécanisme de conjugaison bactérienne (Camilli A).

Du matériel génétique est transporté d'une bactérie à une autre via un pilus conjugatif. Le matériel générique de la bactérie donneuse peut alors être intégré dans celui de la bactérie receveuse.

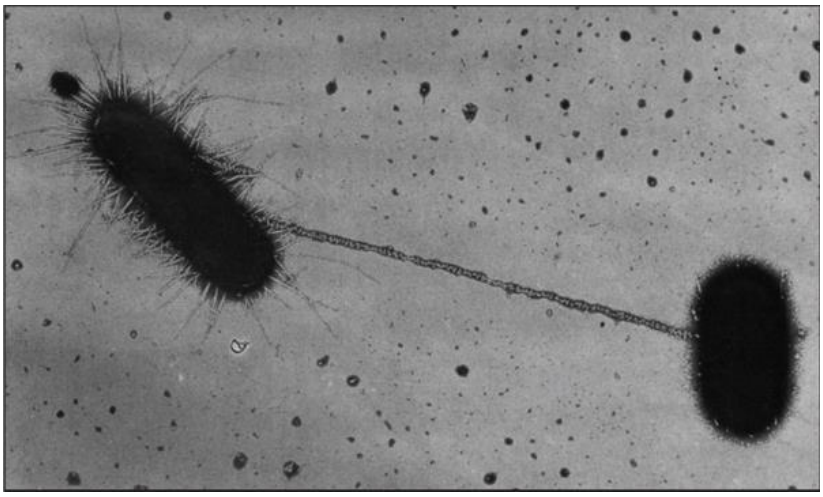

Figure 12 : photo en MEB d'un évènement de conjugaison chez deux bactéries *E. coli* (Issu de (153)).

La conjugaison est, de tous les mécanismes de THG, celui qui présente le plus grand impact sur la dissémination de la résistance aux antibiotiques (154). Beaucoup de gènes codant pour des β-lactamases (principalement les gènes bla_{OXA} et bla_{NDM}) sont portés par des plasmides, aussi la conjugaison est un bon candidat pour la transmission horizontale de ces gènes, même si elle n'est pas toujours facile à étudier, car les plasmides d'*A. baumannii* sont particulièrement difficiles à isoler (155).

Parmi les gènes de résistance se transférant par conjugaison, on retrouve le gène bla_{OXA-23}, codant pour une β-lactamase de classe D d'importance majeure dans l'acquisition de résistances. Initialement présent naturellement chez *Acinetobacter radioresistens*, il a sans doute été transmis par transposition ou par HGT à de nombreuses autres espèces d'*Acinetobacter*, dont *A. baumannii* (156).

Il existe d'autres oxacillinases pour lesquelles on suspecte un transfert de gènes de résistance via un mécanisme de conjugaison. C'est le cas du gène bla_{oxa-40}, qui peut être porté soit par le chromosome bactérien, soit par un plasmide (157). Malgré sa localisation plasmidique avérée, l'existence de THG par conjugaison n'a pas pu être démontrée pour cette β-lactamase. Un tel mécanisme est toutefois fortement suspecté car les plasmides dans lesquels le gène bla_{oxa-40} a été retrouvé portent également des gènes *mob*, qui facilitent la mobilisation par des plasmides conjugatifs (158). La conjugaison n'a pas non plus été démontrée pour le gène bla_{OXA-58} malgré sa localisation

plasmidique ainsi que sa très grande distribution au sein d'*A. baumannii*, suggérant ainsi l'implication d'un autre mécanisme de THG (149).

D'autres classes de β-lactamases sont concernées par ce mécanisme. Les imipénèmases (IMP) sont un type de MBL, des β-lactamases de classe B. Il a été montré que le gène bla_{IMP-1}, en particulier, était transférable par conjugaison d'*A. baumannii* à *E.coli* lorsqu'il était intégré dans un plasmide (159). La conjugaison bactérienne n'a toutefois pas pu être démontrée chez un autre type de MBL, les Verona integron-encoded MBL (VIM) (160). En revanche, ce mécanisme a été identifié à haute fréquence ($1{,}15.10^{-2}$) chez les gènes codant pour les NDM plasmidiques d'*A. baumannii* à *E.coli*. Un transfert par conjugaison a également été mis en évidence d'*A. baumannii* à *A. baylyi* (161). La conjugaison semble donc être un mécanisme important dans la dissémination des MBL.

Enfin, la conjugaison semble concerner un dernier type de β-lactamases : les Guyana extended-spectrum β-lactamases (GES), qui sont des ESBL. Les gènes portant ces enzymes peuvent être de localisation chromosomique ou plasmidique. Dans ce dernier cas de figure, ils se situent principalement sur des intégrons, qui sont des éléments génétiques mobiles susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques par mécanisme d'excision-insertion. Il a ainsi été démontré que le gène bla_{GES-11} , porté par des plasmides, peut être transféré par conjugaison entre des bactéries *A. baumannii* (162).

2.2.3. La transduction

La transduction est un mécanisme de THG qui se caractérise par le transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire de bactériophages, des virus spécifiques des bactéries. Ces virus infectent une bactérie en y injectant leur ADN, lequel peut être intégré au chromosome bactérien (on parle alors de prophage) et répliqué puis transmis aux générations suivantes par transfert vertical (phase lysogénique) ou directement former de nouveaux phages contenant alors de l'ADN viral et de l'ADN de la bactérie hôte en détournant la machinerie cellulaire. Ces phages quittent alors la bactérie en la lysant

(phase lytique) et infectent d'autres bactéries, injectant ainsi de l'ADN de la bactérie d'origine pouvant s'insérer par recombinaison dans le génome de la cellule infectée (**figure 13**). Le matériel génétique alors transféré peut coder différentes protéines : des facteurs de virulence, des toxines, ou encore, plus rarement, des gènes de résistance aux antibiotiques (163).

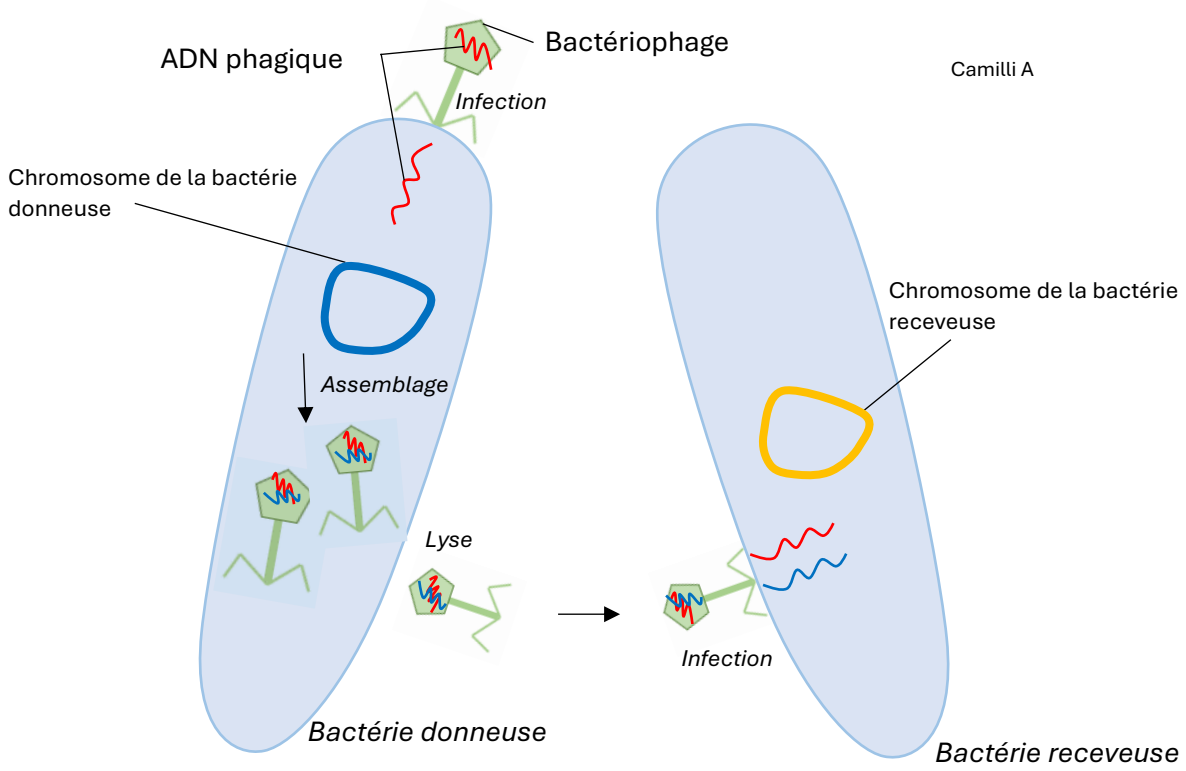

Figure 13 : schéma représentant la transduction bactérienne (Camilli A).
Du matériel génétique est exporté d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un bactériophage, un virus servant ici de vecteur. L'ADN de la bactérie donneuse, transporté par le bactériophage, est intégré dans le génome de la bactérie receveuse après infection de cette dernière par le virus.
ADN : acide désoxyribonucléique

Un transfert de gènes par transduction chez *A. baumannii* a été suspecté pour le gène bla_{NDM-1}. En effet, un THG a été mis en évidence entre deux différentes souches d'*A. baumannii* (R2090 et D1279779) concernant le transposon Tn*125*. La souche R2090 ne possédant ni plasmide, ni gène codant pour un système de sécrétion de type IV, la conjugaison est donc improbable. Etant donné que cette souche arbore trois prophages dont deux sont supposés fonctionnels, la transduction pourrait être le mode de THG qui a permis le transfert de Tn*125* entre ces deux souches bactériennes (164).

La transduction a été très peu étudiée chez *A. baumannii*, mais elle semble toutefois être un mécanisme mineur de THG. En effet, la présence de gènes d'antibiorésistance dans

le génome des phages est rare (165). Il faut néanmoins noter que de nombreux prophages ont été identifiés chez différentes familles de bactéries et la transduction a joué un rôle important dans l'évolution des bactéries pathogènes (166), ayant même co-évolué avec ces dernières (163).

2.2.4. La transformation

2.2.4.1. Définition, notion de compétence

La transformation est un mécanisme de THG qui consiste en l'acquisition de matériel génétique exogène par une bactérie et son intégration dans son génome par recombinaison homologue ou sous forme plasmidique (**figure 14**).

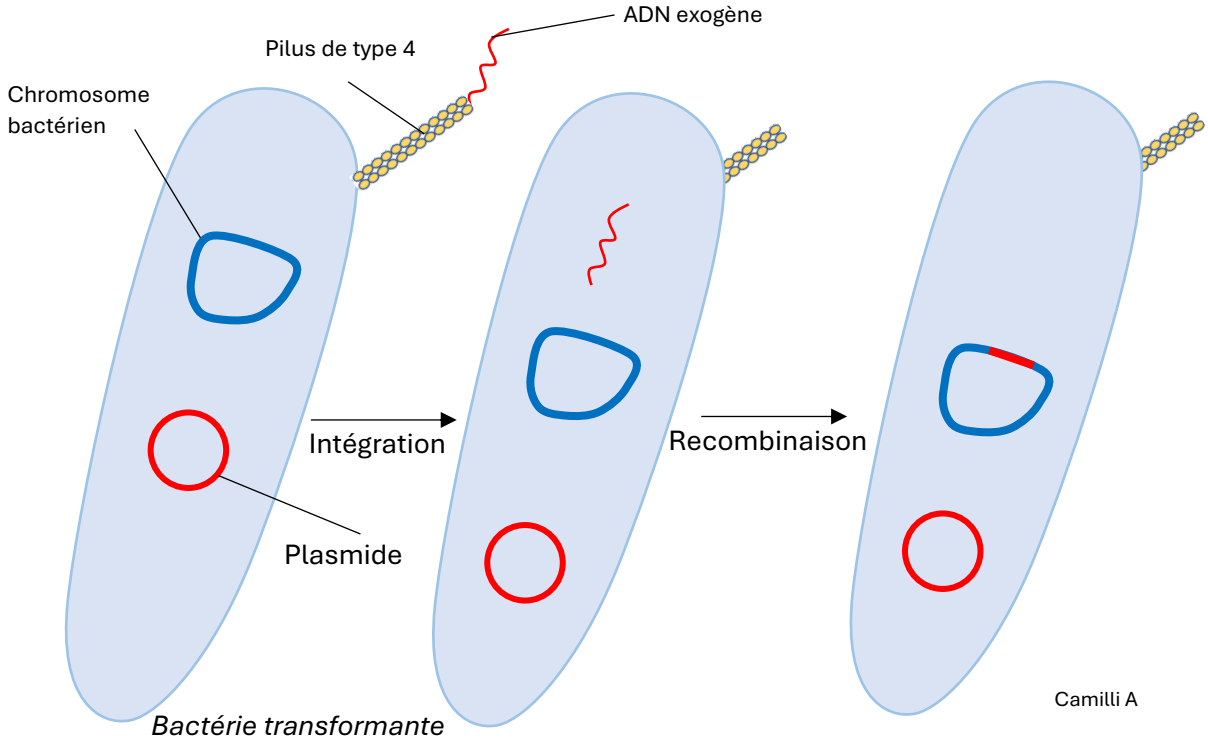

Figure 14 : schéma représentant la transformation bactérienne (Camilli A).
Du matériel génétique est recombiné par le génome d'une bactérie transformante après intégration d'ADN exogène via un appendice bactérien, le pilus de type 4.
ADN : acide désoxyribonucléique

Pour effectuer la transformation, la bactérie receveuse doit être dans un état dit de compétence. La compétence peut être naturellement présente chez une bactérie lorsqu'elle dispose de l'attirail génétique approprié, à savoir des protéines spécialisées qui s'assemblent pour former un complexe de capture d'ADN (on parle de transformation naturelle), ou être obtenue artificiellement en laboratoire par diverses méthodes, la plus courante étant l'électroporation (167).

La compétence est un phénomène très fréquent qui a été mis en évidence chez des familles de bactéries variées : elle est ainsi présente chez des Gram positives comme *Streptococcus pneumoniae* ou *Bacillus subtilis* et des Gram négatives comme *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae*. Elle est minutieusement régulée par signalisation cellulaire et peut être dépendante de facteurs environnementaux, de la composition du milieu dans lequel vit la bactérie mais également de la phase de croissance bactérienne (168,169). D'une manière générale, la compétence est souvent induite en réponse à un stress pouvant être de nature variée (**figure 15**).

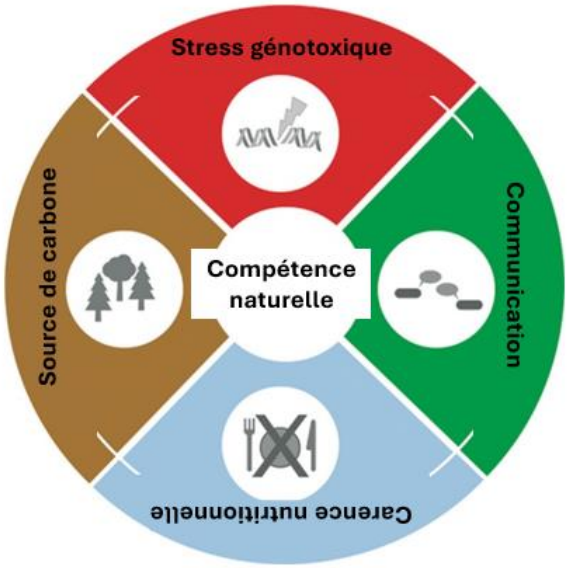

Figure 15 : les principaux signaux d'induction de la compétence chez les bactéries (issu de (170)).

Les conditions d'acquisition de l'état de compétence et de réalisation de la transformation naturelle sont très variables selon les espèces (171) ; certaines d'entre elles sont résumées dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : quelques bactéries et les signaux activateurs de compétence qui leur sont associés

Genre ou espèce bactérienne	*Signaux inducteurs de compétence*	*Référence*
Haemophilus influenzae	Carence en sucres et précurseurs des purines	(172)
Vibrio sp.	Détection du quorum, carence en précurseurs des pyrimidines, présence de résidus de chitine	(173)
Helicobacter pylori	Dommages à l'ADN	(174)
Pseudomonas stutzeri	Phase de croissance, carence en nutriments (azote, carbone, phosphore)	(175)
Bacillus subtilis	Phase de croissance, signaux nutritionnels, quorum sensing	(168)

ADN : acide désoxyribonucléique

Ainsi, il a été récemment découvert que la bactérie très préoccupante *Pseudomonas aeruginosa* était capable de transformer de l'ADN à la fois chromosomique et plasmidique sous certaines conditions permettant l'expression du pilus de type 4 (T4P), comme dans des milieux enrichis ou au sein de biofilms (176).

De même, la bactérie *Staphylococcus aureus*, et en particulier les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM), disposent de la capacité d'acquérir des ilots génomiques de résistance aux β-lactamines par transformation naturelle (177).

2.2.4.2. État des lieux chez Acinetobacter

Dans le genre *Acinetobacter*, l'espèce la plus étudiée est *A. baylyi*, qui est même un modèle d'étude en laboratoire pour le genre. Cette bactérie présente en effet de nombreux avantages : elle est naturellement compétente durant toutes les phases de croissance (178), exécutant à la fois une transformation chromosomique et plasmidique, et est très facile à manipuler génétiquement. Elle est capable d'intégrer et

d'exprimer une grande variété de gènes concernant la résistance aux antibiotiques, des opérons d'autres bactéries ou encore des gènes métaboliques (179).

Si de nombreuses études ont été faites sur *A. baylyi*, la transformation reste un phénomène moins étudié chez les souches d'importance clinique du genre *Acinetobacter*. La première souche clinique de ce genre à avoir été identifiée comme transformable naturellement est *A. baumannii* A118, isolée du sang d'un individu en Argentine en 2010 (180). D'autres souches compétentes ont également été identifiées sur des animaux, dans un contexte clinique (181), ou non-clinique (182). D'une manière générale, la transformation semble être un mécanisme de THG particulièrement fréquent au sein du genre *Acinetobacter* (183), et parfois dépendant de la phase de croissance de la bactérie. En effet, concernant *A. baumannii*, les niveaux de transformation les plus élevés sont retrouvés en phase exponentielle et chutent drastiquement dès lors que la bactérie entre en phase stationnaire (184) (**figure 16**), contrairement à *A. baylyi* qui est transformable durant toute la croissance (185).

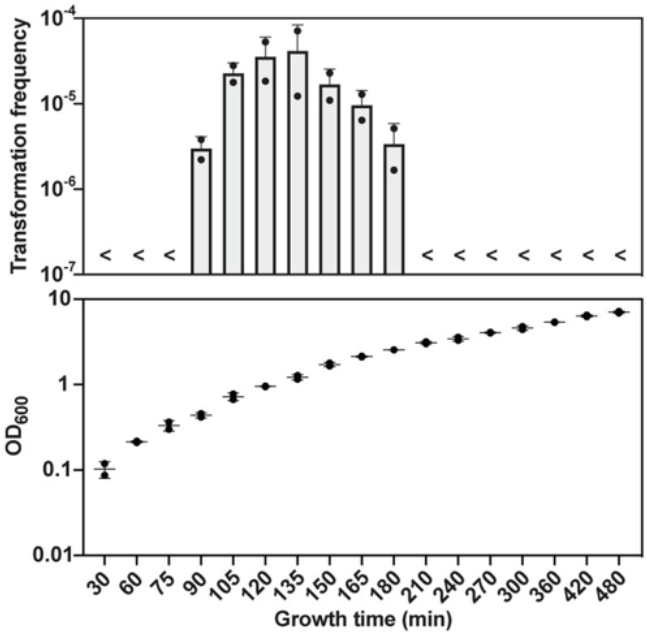

Figure 16 : fréquence de transformation (graphique du haut) et densité optique (graphique du bas) d'*A. baumannii* en fonction du temps (issu de (184)).
On observe une corrélation entre la phase exponentielle de croissance et les fréquences de transformation maximales. OD_{600} : densité optique à 600 nm ; **<**, en dessous de la limite de détection.

Quelques études montrent que les bactéries du genre *Acinetobacter* sont capables d'acquérir des gènes d'antibiorésistance via transformation bactérienne. Ainsi, le gène

bla$_{IMP-5}$, porteur d'intégrons de classe 1, d'une souche d'*A. baumannii* 65FFC a pu être expérimentalement transformé par une souche d'*A. baylyi* SD2 et intégré dans le génome de cette dernière par recombinaison homologue (186).

Chez *A. baumannii*, les analyses génomiques indiquent que la transformation naturelle permettrait d'acquérir de nombreux gènes de résistance chromosomique présents sur des transposons, des ilots de multirésistance ou des mutations ponctuelles comme par exemple par l'acquisition d'allèles de gènes *gyrA* et *parC* conférant une résistance aux quinolones (187–190). Cette forte présomption a été confirmée expérimentalement par une étude récente mettant en évidence, en conditions de biofilm mixte, l'acquisition de gènes de résistance par transformation naturelle entre souches d'*A. baumannii*. Cette étude décrit l'acquisition médiée par transformation naturelle de transposons porteurs de gènes de résistances aux carbapénèmes (*oxa-23*) mais également d'ilots génomiques pouvant porter plus de 20 gènes de résistance (aux tétracyclines, β-lactamines, aminosides) (191).

2.2.4.3. Un mécanisme complexe

Le mécanisme derrière la transformation bactérienne est particulièrement complexe et se fait en plusieurs temps. Une fois la bactérie compétente, l'étape suivante de la transformation consiste en l'internalisation d'ADN exogène dans le périplasme. La principale structure derrière cette phase implique un assemblage protéique, le pilus de type 4.

2.2.4.3.1. Initiation de la transformation : le pilus de type 4, couteau suisse de la bactérie

<u>Description et biogénèse</u>

Le T4P est un appendice filamenteux constitué entre autres de polymères de deux types de protéines qui composent l'hélice transmembranaire, la piline majeure et des pilines mineures. Sa particularité vis-à-vis d'autres structures bactériennes similaires, comme le système de sécrétion de type III, réside en sa dynamique : les filaments se

polymérisent et se dépolymérisent, permettant des cycles rapides d'extension et de rétraction (192) (**figure 17**).

La longueur des filaments varie mais est généralement de quelques micromètres, avec une longueur de persistance (longueur maximale pour laquelle les conformations du premier et du dernier monomères sont liées entre elles) de cinq µm alors que leur diamètre est de cinq à huit nm (193).

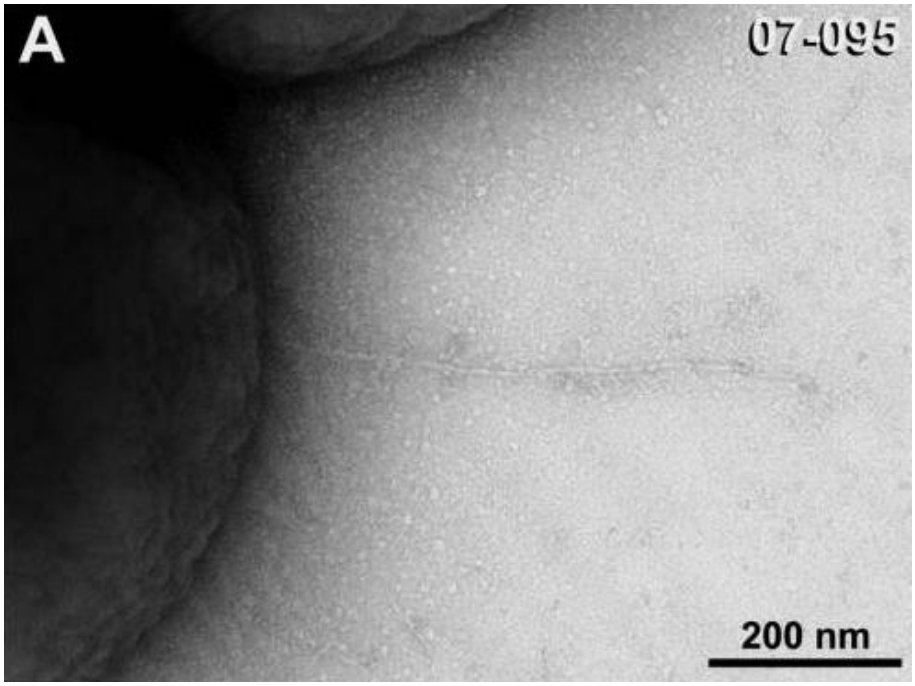

Figure 17 : photographie en MET d'un pilus de type 4 de la bactérie naturellement compétente *A. baumannii* 07-095 (issu de (182)).

La biogénèse du T4P implique une machinerie complexe, composée de plusieurs éléments centraux : une prépiline peptidase, deux ATPases cytoplasmiques qui fournissent l'énergie en hydrolysant l'adénosine triphosphate (ATP), une protéine de la membrane interne qui convertit l'énergie chimique de l'hydrolyse de l'ATP en énergie mécanique pour le mouvement du filament, une sécrétine transmembranaire et, enfin, le filament en lui-même (194).

Lorsque les gènes de compétence tardifs sont exprimés, la prépiline, protéine précurseur de la piline majeure (PilA) constitutive des filaments, est clivée par la prépiline peptidase (PilD). Les polymères de piline majeure sont ensuite chargés sur la protéine de membrane interne PilG, puis polymérisés et incorporés au pilus via l'ATPase

d'assemblage PilB, entrainant alors la formation et l'extension du filament du pilus de type 4. La protéine transmembranaire de type sécrétine PilQ permet le passage du filament à travers la membrane externe dans le milieu extérieur. Enfin, l'ATPase de rétraction PilT permet la dépolymérisation et la rétraction du filament (194,195) (**figure 18**).

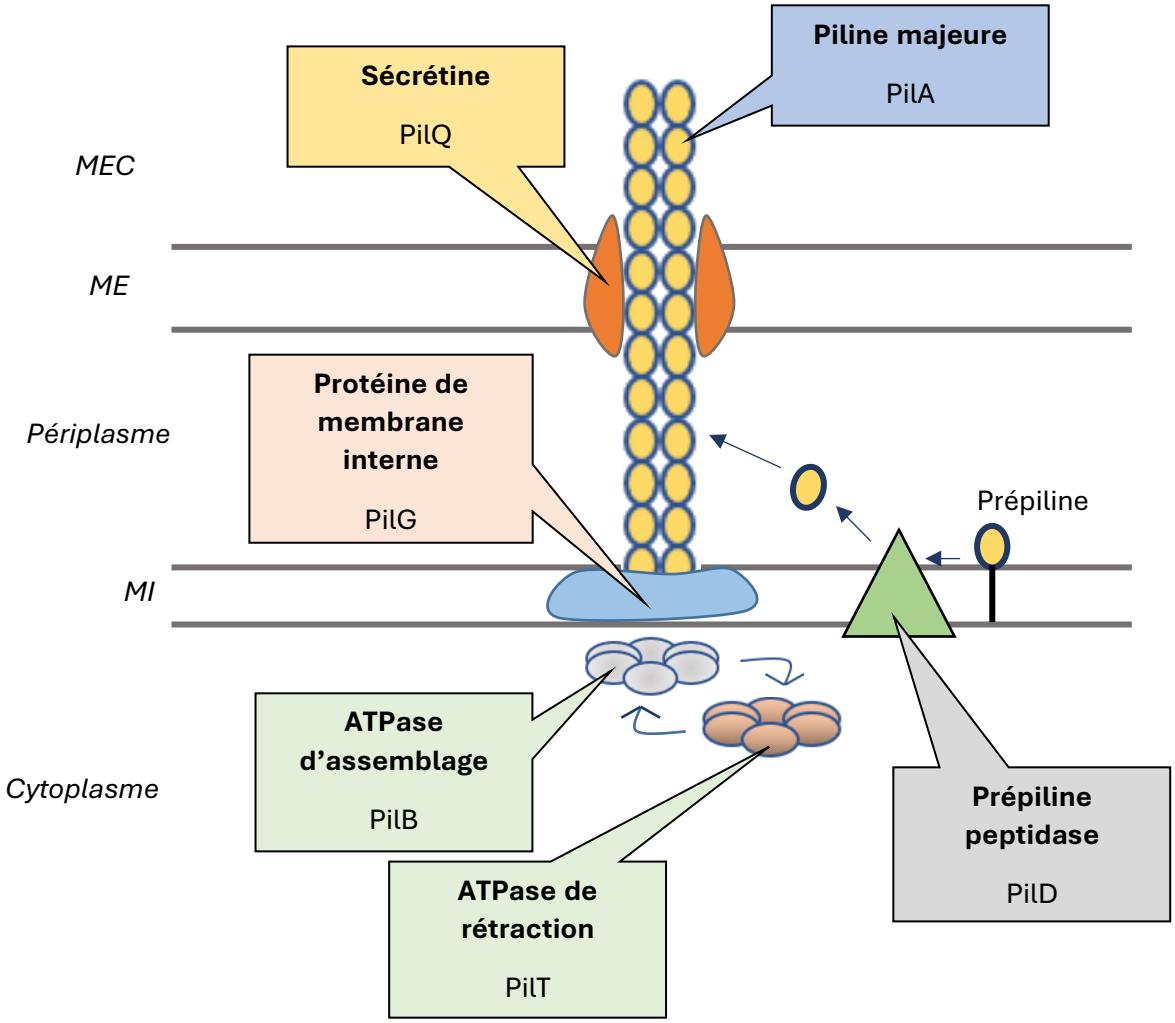

Figure 18 : architecture générale du pilus de type 4 (adapté de (194,195)).
MEC : milieu extracellulaire ; ME : membrane externe ; MI : membrane interne ; ATPase : adénosinetriphosphatase

Initiation de la transformation bactérienne

Chez les bactéries Gram négatives comme *Acinetobacter*, la fixation de l'ADN par le filament du T4P n'est que la première étape de l'intégration de l'ADN exogène au génome bactérien. Son mécanisme exact a longtemps été sujet à débats parmi la communauté

scientifique (194). Le modèle communément accepté suggère que l'ADN exogène se lie à la pointe du filament du T4P, avant d'être internalisé dans le périplasme, dans le cas des bactéries à Gram-négatif. Le mécanisme précis permettant cette liaison ADN-pilus varie selon les bactéries et n'est pas connu pour toutes les espèces. Chez la famille des *Neisseriaceae*, il s'agit d'une piline mineure ComP qui reconnait l'ADN (196), alors que dans le cas de la bactérie extrémophile, *Thermus thermophilus*, un complexe formé par la protéine associée à la compétence ComZ et la piline majeure PilA2 endosse ce rôle (197).

Toutefois, il a été observé que la vitesse de rétractation du filament du T4P était très supérieure à la vitesse d'internalisation d'ADN dans le périplasme, impliquant l'existence d'un phénomène prenant la relais du T4P (198). En effet, une fois l'ADN partiellement internalisé par le T4P, la protéine ComEA se lie au double brin d'acide nucléique (199), achevant ainsi sa translocation dans le périplasme et ouvrant la voie au passage du matériel génétique dans le cytoplasme bactérien, par un mécanisme différent (**figure 19**).

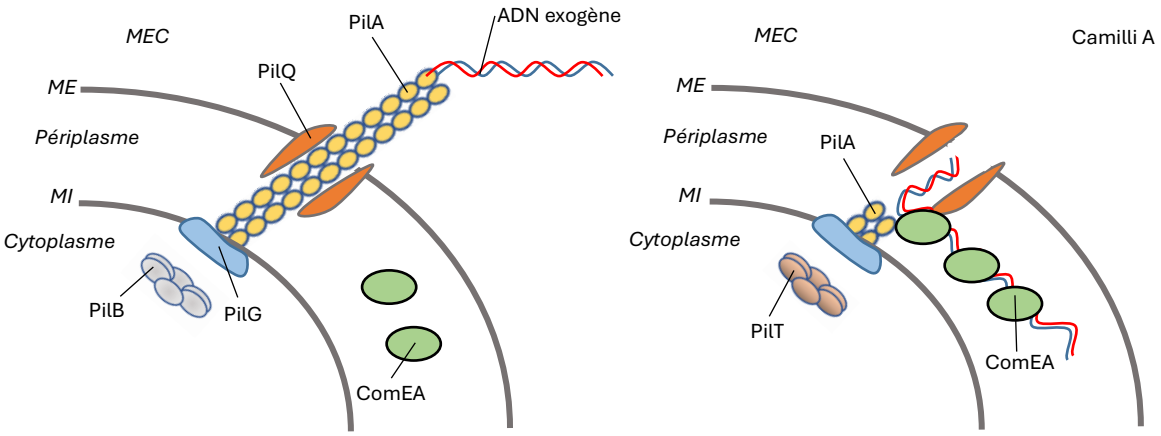

Figure 19 : Internalisation en deux temps d'ADN exogène dans le périplasme bactérien (Camilli A, adapté de (194)).

L'ADN est d'abord fixé par le filament du T4P, avant que l'action de PilT n'implique la dépolymérisation de celui-ci, permettant ainsi l'entrée du matériel génétique extérieur dans le périplasme. L'ADN est ensuite pris en charge par la protéine chaperone ComEA, qui permet son intégration complète dans l'espace périplasmique. MEC, milieu extra-cellulaire ; ME, membrane externe ; MI, membrane interne

Transformation naturelle et motilité : deux mécanismes liés

Chez *A. baumannii*, il a été montré que le phénomène de compétence semble corrélé à la motilité sur surfaces humides. En effet, quand bien même les bactéries du genre *Acinetobacter* n'arborent pas de flagelle et ne sont donc, à ce titre, pas mobiles —d'où le nom du genre— il est depuis longtemps connu qu'elles présentent tout de même deux formes de motilité. La première est la motilité liée aux surfaces, indépendante de tout appendice bactérien (pilus ou fimbriae), et médiée par l'extrusion de substances extrapolymériques, comme le LOS (200) ou le 1,3-diaminopropane (201). La seconde est la motilité de type « twitching », due à des mouvements de translocation de surface (202). Ce phénomène est médié par le T4P et consiste en un mouvement de la bactérie par extension puis rétraction de cette structure (**figure 20**). Ces deux types de motilité se retrouvent au sein de l'espèce *A. baumannii* et sont dépendantes de chaque souche. Ainsi, certaines souches présentent simultanément ces deux types de motilité (comme *A. baumannii* MAR002), d'autres n'en présentent qu'un (AYE n'effectue que la motilité twitching, ATCC 17978 que la motilité liée aux surfaces), et certaines sont non-motiles (à l'instar d'ATCC 19606) (203).

Deux études récentes ont en effet prouvé cette corrélation entre transformation et motilité « twitching » chez *A. baumannii*. L'inactivation de certains gènes codant pour diverses protéines composant le T4P (*pilA*, *pilD* et *pilT*) s'est avérée délétère à la fois pour la motilité de la bactérie mais aussi pour la transformation (182,204), suggérant l'existence de mécanismes communs à ces deux phénomènes, médiés par le T4P. Ce lien entre motilité « twitching » et transformation naturelle n'est pas propre à *A. baumannii* et des expériences de délétions similaires ont été menées chez d'autres types de bactéries comme *Neisseria gonorrhoeae* (205), *Myxococcus xanthus* (206), ou encore *Pseudomonas aeruginosa* (207), avec des résultats analogues. Le mécanisme permettant aux bactéries de se mouvoir via le T4P est similaire à celui par lequel elles internalisent de l'ADN exogène : après l'extension du filament, ce dernier s'attache sur des surfaces humides. L'action de l'ATPase PilT entraine ensuite une rétraction du filament, à l'image d'un grappin, permettant l'avancée de la bactérie à une vitesse d'environ un µm/s (192) (**figure 20**).

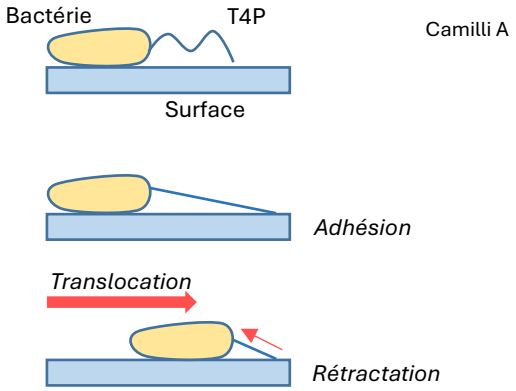

Figure 20 : mécanisme de mobilité « twitching », médiée par un T4P (Camilli A)
Le filament du pilus de type 4 de la bactérie s'étend et s'attache sur certains types de surfaces. Sa rétraction permet ensuite à la bactérie de se mouvoir à la manière d'un grappin.

T4P : pilus de type 4

Un rôle sensoriel et de transporteur

En dehors de son activité dans la transformation bactérienne et dans la motilité twitching, le T4P joue aussi un rôle dans la formation de microcolonies et de biofilms. En effet, sous l'effet d'un stress externe, des forces attractives peuvent avoir lieu entre des pili de bactéries en solution. La rétraction des pili, médiée par ATPase, permet alors un rapprochement entre les bactéries, influant alors sur diverses propriétés comme la viscosité et la tension de surface, permettant finalement la mise en place de microcolonies, potentiellement précurseurs de biofilms (208).

Cet appendice peut aussi revêtir le rôle de système de sécrétion bactérien. Il a en effet été montré que le T4P présente une grande homologie, structurelle comme fonctionnelle, avec les systèmes de sécrétion de type II chez les bactéries Gram-négatives (209). Ainsi, les T4P de certaines bactéries peuvent transporter des exoprotéines du périplasme vers le milieu extra-cellulaire. Ce mécanisme a été retrouvé dans le cas du pilus corégulé par les toxines de *V. cholerae* (210) ou encore chez une des deux bactéries responsables du piétin chez les petits ruminants, *Dichelobacter nodosus* (211).

2.2.4.3.2. Fin de la transformation : internalisation dans le cytoplasme et recombinaison

Une fois l'ADN lié à ComEA dans le périplasme, ce dernier doit traverser la membrane interne afin d'accéder au cytoplasme et être intégré au génome bactérien. Avant cela, l'ADN alors bicaténaire est dégradé en ADN monocaténaire par une enzyme. Le mécanisme exact de cette digestion n'est pas encore connu, mais elle est vraisemblablement orchestrée par une nucléase encore non identifiée ou par une extension périplasmique de la protéine ComEC (184).

La susnommée protéine ComEC est en effet un canal transmembranaire présent à l'interface de l'espace périplasmique et du cytoplasme bactérien, permettant, avec l'aide de la protéine ComF, la translocation de l'ADN monocaténaire dans le cytoplasme par la membrane interne, l'autre brin étant dégradé dans le périplasme (194).

Une fois internalisé, l'ADN est pris en charge par diverses protéines cytoplasmiques. La protéine Ssb permet la protection du matériel génétique et favorise la recombinaison au sein du chromosome bactérien (212). La protéine DprA permet de charger la recombinase RecA qui se polymérise sur le brin d'ADN. Cette dernière joue alors un rôle central dans la fin du processus de transformation : via la formation de complexes filamenteux, elle explore le chromosome bactérien pour y rechercher des régions homologues dans lequel l'ADN exogène pourra s'intégrer (213). Une fois qu'une région compatible a été trouvée, une boucle de déplacement (D-loop, displacement loop) se forme. Les jonctions de cette boucle peuvent être modulées selon la taille du fragment d'ADN à intégrer via un processus appelée migration de branches, facilité par l'hélicase hexamérique ComM, qui permet également la facilitation de déroulement de la D-loop (214) (**figure 21**). Une fois ce processus achevé, l'intégration d'ADN monocaténaire forme alors un hétéroduplex stabilisé par réplication et ségrégation chromosomique, impliquant alors la coexistence d'un chromosome portant un génotype « sauvage » et d'un autre chromosome portant un génotype contenant l'ADN transformé. L'ADN nouvellement intégré est exprimé très rapidement une fois l'ensemble du processus terminé, avant la division cellulaire. Ainsi, une fois celle-ci effectuée, une cellule contiendra du matériel génétique transformé et l'autre pas (215).

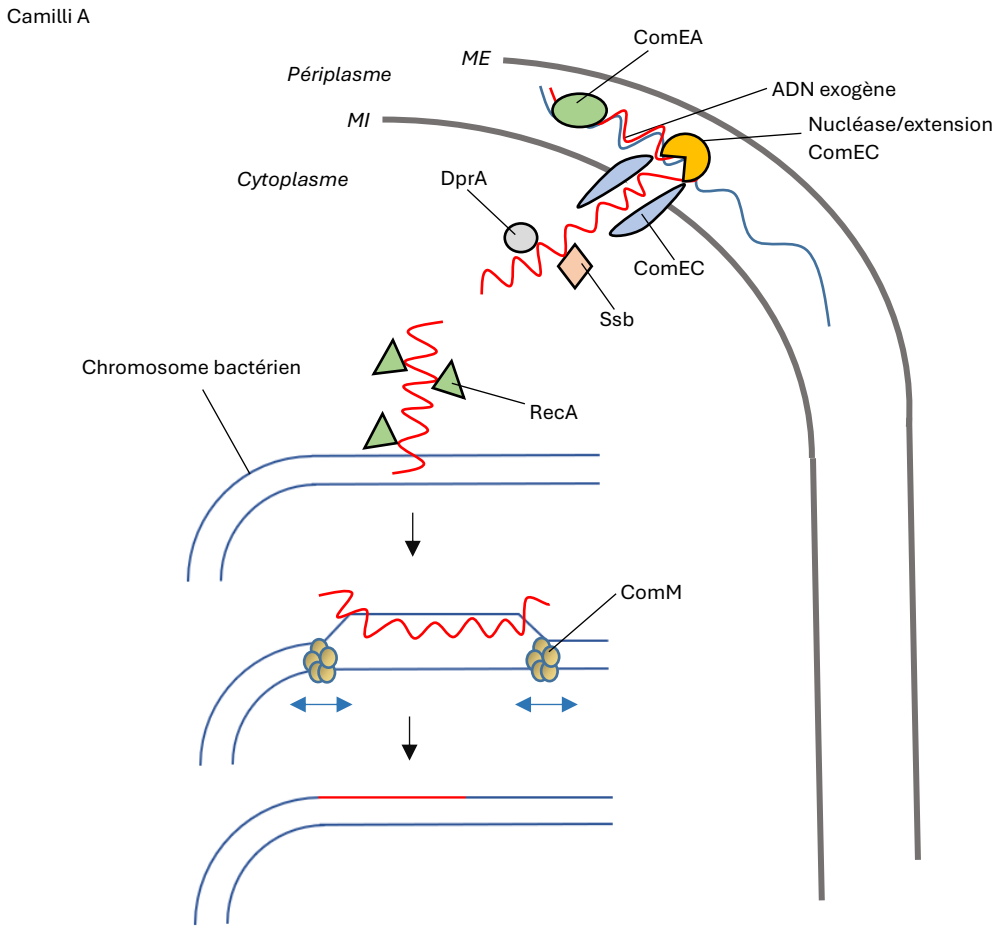

Figure 21 : intégration de l'ADN exogène dans le chromosome bactérien (Camilli A, adapté de (195)).

L'ADN bicaténaire, alors dans le périplasme, est clivé en ADN monocaténaire, passant par le canal transmembranaire ComEC pour atteindre le cytoplasme. Il est alors lié par diverses protéines cytosoliques comme Ssb et DprA, puis ultimement RecA qui permet la recherche d'une séquence nucléotidique homologue au sein du chromosome bactérien. Une fois cette séquence trouvée, l'hélicase ComM facilite la formation d'une D-loop pour finaliser l'intégration du matériel génétique exogène, marquant la dernière étape de la transformation bactérienne. *ME* : membrane externe ; *MI* : membrane interne ; *ADN* : acide désoxyribonucléique

2.2.4.4. Objectif de l'étude

A. baumannii est un agent pathogène humain et animal dont la prise en charge clinique est compliquée par sa grande capacité à acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques. Cette habilité est rendue possible par les mécanismes de THG, notamment la transformation naturelle qui est apparue récemment comme un moteur essentiel de l'acquisition de résistance multiple.

L'objectif de la partie expérimentale de ce travail est de comprendre comment cette bactérie déclenche ce mécanisme de THG. La composition du milieu ayant été décrite comme pouvant déclencher l'expression de gène de transformation chez d'autres genres transformables, nous avons entrepris de suivre l'expression de gènes de la transformation chez *A. baumannii* dans différents contextes afin de mettre en évidence des conditions inductrices de la transformation.

Partie expérimentale : Étude des conditions de régulation de gènes de transformation chez *Acinetobacter baumannii*

1. Matériel et méthodes

1.1. Souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées lors de ce travail sont présentées dans l'**annexe 1**.

Sauf exceptions précisées, la croissance des bactéries a été réalisée en milieu lysogeny broth (LB).

1.2. Composition des milieux

Les milieux utilisés lors des diverses expériences sont détaillés dans l'**annexe 2.**

1.3. Construction des souches bactériennes

Les oligonucléotides utilisés dans cette étude sont listés en **annexe 3**.

Les modifications génétiques ont été réalisées à l'aide de la méthode de réaction en chaine par polymérase (PCR, polymerase chain reaction) d'assemblage et celle de sélection/contre-sélection permettant de réaliser des modifications génétiques sans marques, issue de Godeux et al. (181). Dans un premier temps, une cassette de sélection/contre-sélection a été créée (*sacB-aac4*), permettant de conférer aux bactéries qui la portent une sensibilité au saccharose et une résistance à l'apramycine. Une PCR d'assemblage a permis d'obtenir un fragment d'ADN chimérique présentant la cassette *sacB-aac4* et un gène rapporteur (*gfp* ou *lacZ*) en aval d'un promoteur (Pst). Ce

fragment a été inséré dans un plasmide de clonage en utilisant le kit de clonage pJET1.2 (CloneJET PCR cloning Kit, Thermofisher scientific) générant le plasmide pAC-1. Les gènes rapporteurs *gfp* et *lacZ* ont été amplifiés, respectivement, du plasmide pASG-1 issu de l'étude de Godeux et al. (181) et *Escherichia coli* MG1655. Enfin, des terminateurs de transcription forts (T_{5S} et T_{filA}) ont été intégrés pour obtenir le plasmide pAC-2 portant la cassette T_{5S}-*sacB-aac4-Pst-gfp/lacZ*-T_{filA}.

Cette cassette de contre-sélection a ensuite été insérée dans le site *att*Tn*7*, qui a été sélectionné car situé dans un locus neutre du chromosome d'*A. baumannii*. Dans ce but, une PCR d'assemblage a été effectuée pour flanquer la cassette T_{5S}-*sacB-aac4-Pst-gfp/lacZ*-T_{filA} entre deux fragments d'ADN de deux kilobases (kb) chacun, homologues au site d'insertion *att*Tn*7*. Les fragments de deux kb ont été obtenus par PCR sur de l'ADN génomique de la souche AB5075. Les PCR ont été réalisées avec la polymérase PrimeStarMax. Après vérification de la bonne taille des produits par électrophorèse sur gel d'agarose, purification à base de billes (AMPure XP) et contrôle de la concentration d'acides nucléiques (NanoDrop), une première transformation a été réalisée avec ce fragment d'ADN chimère portant la cassette et AB5075, afin d'obtenir des bactéries portant cette cassette de sélection/contre-sélection par recombinaison homologue. Les transformants ont alors été sélectionnés du fait de leur résistance à l'apramycine.

Enfin, les bactéries portant la cassette T_{5S}-*sacB-aac4-Pst-gfp/lacZ*-T_{filA} ainsi obtenues ont été transformées avec un fragment d'ADN chimérique portant un promoteur associé à un des gènes d'intérêt (voir **tableau IX**) étudiés permettant de remplacer par recombinaison homologue le fragment *sacB-aac4-Pst* par une région promotrice d'intérêt. Les transformants ont alors été sélectionnés du fait de leur résistance au saccharose. Chaque construction génétique a été contrôlée par séquençage.

L'ensemble de ces constructions ont été réalisées au laboratoire par le doctorant Alexandre Chassard, à l'exception des souches porteuses des fragments T_{5S}-P_{pilA}-*pilA-gfp/lacZ*-T_{filA}.

1.4. Expériences de transformation

Après ensemencement d'une souche bactérienne d'intérêt sur boite de Petri et mise à incuber pendant 24h à 37°C sur du milieu LB, une unité formant colonie (UFC) a été repiquée et diluée dans 10 µL d'eau ultra-pure. Un µL de cette suspension a été mélangé avec 10 µL d'ADN substrat, et 2,5 µL de ce mélange ont ensuite été déposés sur un milieu de motilité gélosé contenant du tryptone et 1 % d'agarose dans des tubes Eppendorf de deux mL et mis à incuber pendant 24h à 37°C. Trois cents µL de PBS ont ensuite été ajoutés à la surface du tube et les bactéries ont été resuspendues par agitation au Vortex. Cent µL du mélange ont été prélevés et ensemencés sur boite de Petri contenant du milieu sélectif gélosé à l'aide de billes d'inoculation (LB supplémenté en l'aparmycine (30 µg/µl) ou milieu minimum M63 additionné de 10% de saccharose, voir **annexe 2**). Après incubation 18 à 24h à 37°C, les phénotypes des clones candidats ont été vérifiés sur milieux et le génotype confirmé par PCR puis séquençage.

1.5. Mesures de la cinétique de la fluorescence relative de la green fluorescent protein (GFP)

Les souches testées ont été striées à partir d'un stock glycérolé sur boites de Petri et mises à étuver 18h à 37°C. Une UFC a ensuite été reprise dans deux mL de milieu LB et cette suspension a été mise à incuber avec agitation à 37°C jusqu'à l'obtention d'une densité optique à 600nm (DO_{600nm}) de un, avant d'être diluée dans le milieu d'intérêt de sorte à obtenir une DO_{600nm} de 0,01. Divers milieux ont été testés et leur composition est présentée dans l'**annexe 2**. Deux cents µL de ces suspensions bactériennes ont ensuite été déposés en triplicat dans une plaque 96 puits, alors mise à incuber pendant 18 heures dans un lecteur de microplaques (TECAN Infinite 200 Pro) avec une mesure de la DO_{600nm} et de la fluorescence (excitation : 480 nm, émission : 520 nm) toutes les 10 minutes.

Pour la mesure de la fluorescence lors de modification du milieu, une suspension bactérienne ayant une DO de 0.01 en milieu liquide tryptone (5 g/L) a été obtenue et 200

µL de cette suspension ont été ajoutés et mélangés dans les puits d'une plaque Biolog GenIII (BioAlliance Expertise), avant d'être transférés dans une plaque 96 puits standard qui a été mise à incuber comme précédemment.

La valeur de fluorescence donnée par le lecteur de plaque à un temps donné de la souche sauvage (wild-type, WT) a été retranchée de la valeur d'intérêt (fluorescence corrigée). La fluorescence corrigée a ensuite été divisée par la valeur de l'absorbance dont on a soustrait l'absorbance du milieu, permettant ainsi l'obtention de la fluorescence relative corrigée.

1.6. Mise en évidence de l'activité β-galactosidase

L'observation de l'activité β-galactosidase, révélant le niveau d'expression du gène *lacZ*, s'est effectuée après l'inoculation de cinq µL de suspension bactérienne à une DO_{600nm} de 0,01 dans un milieu gélosé contenant 1 % d'agarose D3 (Euromedex) et cinq g/L de tryptone auquel a été ajouté du X-Gal à la concentration de 40 µg/mL. Les colonies ont été photographiées après 18h d'incubation à 37°C.

1.7. Analyses statistiques

Un test de Mann-Whitney-Wilcoxon a été réalisé afin de déterminer l'influence de la délétion de *comEC* sur l'expression de *pilA* dans deux milieux différents. Une valeur p inférieure à 0,05 correspond à la significativité statistique.

2. Résultats

2.1. Création d'une plateforme d'expression chromosomique chez *A. baumannii*

Afin de suivre l'expression des gènes responsables de la transformation bactérienne chez *A. baumannii,* une plate-forme d'expression chromosomique (CEP, chromosomal expression platform) (**figure 22**) a été construite. Celle-ci a permis l'insertion dans un locus du chromosome de gènes rapporteurs avec une expression sous contrôle de la région promotrice de gène de transformation. L'activité de ces gènes rapporteurs a alors été corrélée à l'expression des gènes d'intérêt auxquels ils sont fusionnés transcriptionnellement.

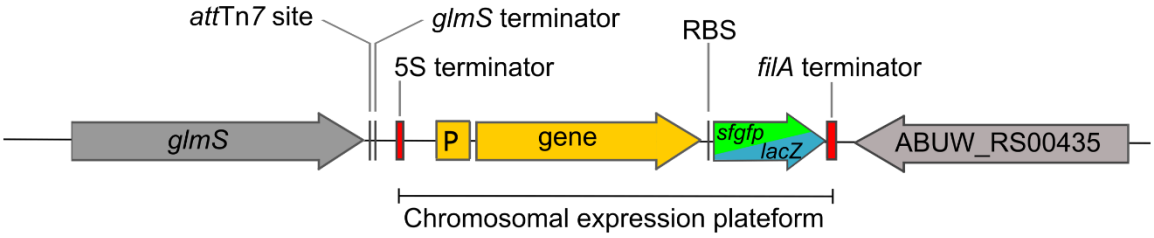

Figure 22 : représentation schématique de la plate-forme d'expression chromosomique au site *att*Tn*7*.
La plate-forme d'expression chromosomique permet de mesurer l'activité de chaque gène d'intérêt, fusionné transcriptionnellement à un gène rapporteur dans un locus neutre de la bactérie.

Terminator : terminateur ; *chromosomal expression platform* : plateforme d'expression chromosomique ; *RBS* : ribosome binding site

2.2. Analyse de l'expression des gènes de la transformation chez *A. baumannii* grâce à la CEP

Huit gènes impliqués dans la transformation ont été sélectionnés dans le but d'étudier, en utilisant la plate-forme d'expression chromosomique créée à cet effet, leur expression dans divers environnements (**tableau IX**).

Tableau IX : liste de gènes impliqués dans la transformation bactérienne étudiés

Nom du gène	Protéine codée	Rôle chez *A. baumannii*	Locus tag dans AB5075
Structure du T4P			
pilA	PilA	Composant majeur du T4P	ABUW_0304
Capture et intégration de l'ADN			
comEA	ComEA	Liaison et transport de l'ADN bicaténaire dans le périplasme	ABUW_RS16025
comEC	ComEC	Internalisation de l'ADN monocaténaire dans le cytoplasme	ABUW_RS04785
comF	ComF	Internalisation de l'ADN monocaténaire dans le cytoplasme	ABUW_0391
Intégration de l'ADN au génome			
ssb	SSB	Protection de l'ADN monocaténaire Favorise la recombinaison au sein du chromosome	ABUW_RS00975
recA	RecA	Recherche de sites de recombinaison homologue	ABUW_RS08515
dprA	DprA	Chargement de RecA sur l'ADN	ABUW_RS18120
comM	ComM	Déroulement de la D-loop	ABUW_RS17810

T4P : pilus de type 4 ; ADN : acide désoxyribonucléique

2.2.1. Fusions *lacZ*

Tout d'abord, nous avons étudié l'expression des huit gènes fusionnés à *lacZ* grâce à la mesure de l'activité β-galactosidase sur un milieu solide (**figure 23**).

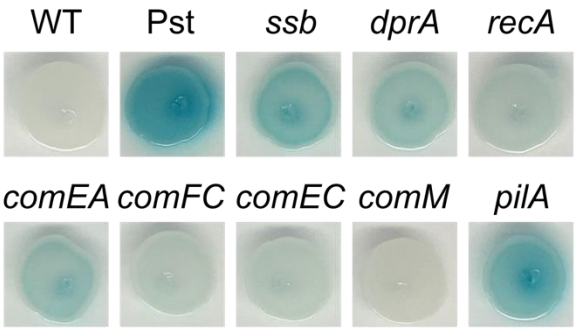

Figure 23 : Détection des niveaux d'expression pour huit gènes de transformation fusionnés au gène *lacZ* sur un milieu de transformation solide supplémenté en X-Gal.

La souche de type sauvage AB5075 (WT, sans activité ß-galactosidase) et un contrôle avec un promoteur fort constitutif dans la CEP en amont du gène *lacZ* (Pst) ont été utilisés comme contrôles négatifs et positifs respectivement. Une expérience représentative est présentée.

Lors de cette expérience, la souche sauvage (WT) a été utilisée comme contrôle négatif car elle ne portait pas le gène *lacZ* et donc ne présentait pas d'activité β-galactosidase. La souche Pst, portant le gène *lacZ* sous le contrôle d'un promoteur fort (Pst), a été utilisée comme contrôle positif.

Nous avons observé une intensité marquée de la couleur bleue dans le cas des fusions *pilA-lacZ* et *ssb-lacZ*, témoignant d'une expression élevée de ces gènes. L'intensité fut plus faible concernant les fusions *dprA-lacZ* et *comEA-lacZ* et quasi-nulle dans le cas des fusions *recA-lacZ*, *comF-lacZ*, *comEC-lacZ* et *comM-lacZ*, indiquant une expression peu élevée de ces gènes.

2.2.2. Fusions *gfp*

Afin de pouvoir quantifier leur expression, les huit gènes de transformation ont ensuite été fusionnés au gène *gfp* (codant la GFP superfolder), permettant un suivi cinétique fluorométrique de leur expression en milieu liquide (**figure 24**).

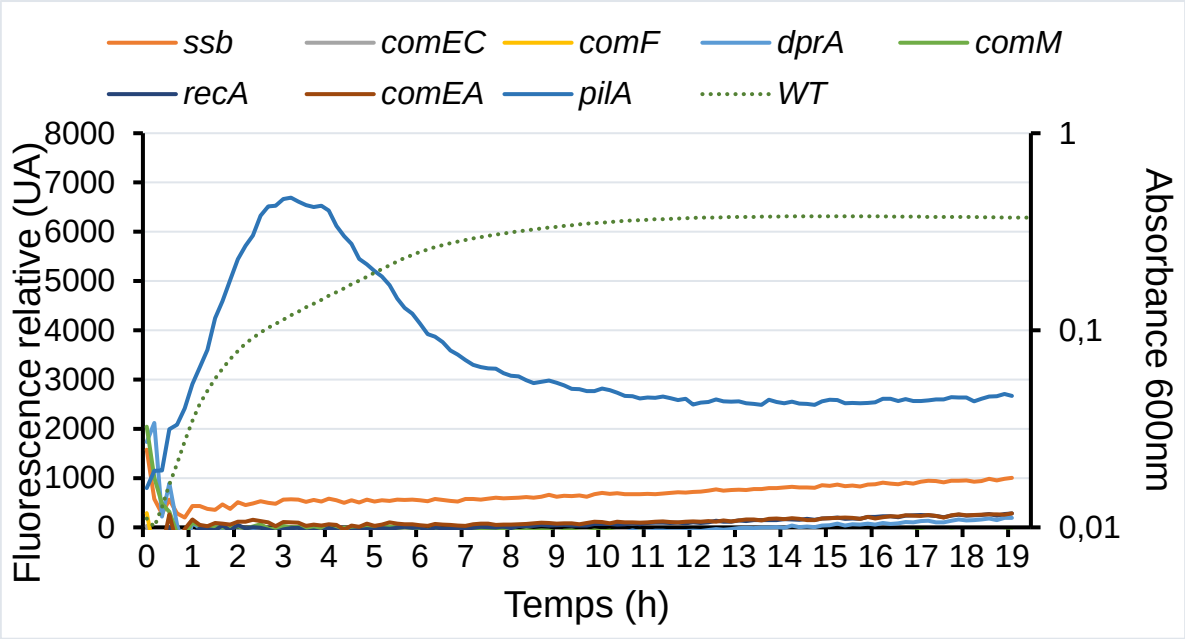

Figure 24 : évolution de la fluorescence relative de huit gènes de la transformation fusionnés au gène *gfp* en milieu tryptone, en fonction du temps.
L'absorbance de la souche WT est représentée en axe secondaire (ligne pointillée). UA : unité arbitraire ; h : heures. Une expérience représentative est présentée.

Une expression élevée et transitoire de la construction *pilA-gfp* en début de phase exponentielle de croissance a été mise en évidence (**figure 24**).

Concernant la cinétique de l'expression du gène *pilA*, l'aspect de la courbe a montré une augmentation de la fluorescence pour atteindre un maximum après 3,2h, atteignant alors une fluorescence relative de 6992 unités arbitraires (UA). Cette dernière a diminué alors avant de se stabiliser à un niveau constant en fin d'expérience, oscillant entre 1700 et 1800 UA.

L'expression des autres gènes étudiés est demeurée basale, à l'exception de *ssb* qui présentait une discrète fluorescence. Sa cinétique était très différente de celle observée pour *pilA* : son expression semblait linéaire, atteignant un maximum en fin d'expérience.

Les niveaux d'expression observés grâce aux fusions *lacZ* en milieu solide et *gfp* en milieu liquide concordaient, en particulier concernant le gène *pilA* qui était fortement exprimé dans chacune des expériences.

2.3. Variation de l'expression de *pilA* selon le milieu

Le gène *pilA* était le seul à avoir une activité plus élevée que les autres gènes étudiés au cours de ce travail. Il a donc été étudié plus en détail. Nous avons alors étudié l'influence de la composition du milieu sur l'expression de la fusion *pilA-gfp* en milieu liquide, en utilisant à nouveau la plate-forme d'expression chromosomique construite à cet effet.

2.3.1. Variation de la composition nutritionnelle du milieu

La déplétion en nutriments a été décrite comme inductrice de la compétence chez certaines bactéries (216–220), aussi nous avons entrepris de faire varier la richesse nutritionnelle des milieux de culture (**annexe 2**) afin d'observer si elle présentait une influence sur l'expression de *pilA*.

Deux milieux riches (tryptone et LB) et deux milieux minimums, pauvres en substrats (milieu minimum acétate (MMA) et MMA + glucose) ont été testés (**figure 25**).

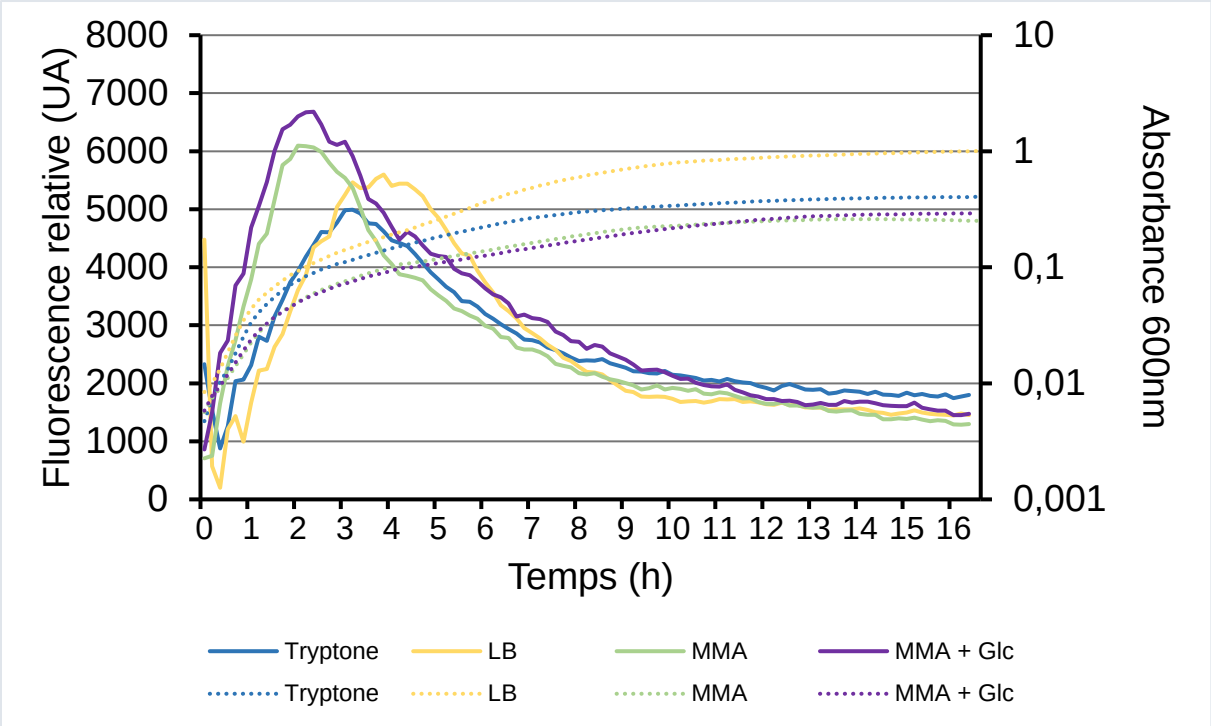

Figure 25 : évolution de la fluorescence relative de la construction *pilA-gfp* dans divers milieux en fonction du temps.
L'absorbance de la souche sauvage est représentée en axe secondaire pour chacun des milieux de croissance (lignes pointillées). MMA: Milieu Minimum Acétate, MMA + Glc : MMA supplémenté en glucose. UA : unité arbitraire ; h : heures. Une expérience représentative est présentée.

Cette expérience a mis en lumière à la fois des différences de maximum de fluorescence et des différences de cinétique selon les milieux testés. En effet, le pic de fluorescence de *pilA-gfp* concernant les milieux les plus riches (LB et Tryptone) semblait à la fois moins intense et plus retardé que celui des milieux minimums (MMA, MMA + Glucose), apportant moins de nutriments aux bactéries (**tableau X**).

Tableau X : maximums d'absorbance de la souche *pilA-gfp* dans quatre milieux différents.

Milieu	Maximum d'absorbance (UA)	Temps (h)
Tryptone	4992	3,2
LB	5523	3,7
MMA	6097	2
MMA+Glc	6681	2,3

La courbe de cinétique d'expression de *pilA* revêtait un aspect similaire à celle observée précédemment (**figure 24**), arborant une expression maximale en début de phase exponentielle de croissance, et ce, quel que soit le milieu d'expression.

2.3.2. Variation de la nature du milieu

Le résultat précédent montrant une influence de la composition du milieu sur l'expression de *pilA*, il a été entrepris de tester d'autres milieux pouvant l'influencer également. Pour cela, une plaque issue du commerce, dans laquelle 96 milieux différents sont lyophilisés, a été utilisée (**figure 26**). Les composés que comportait cette plaque étaient de nature variée : sources de carbone (sucres, acides, acides aminés), antibiotiques, sels. Ils sont détaillés dans l'**annexe 4**.

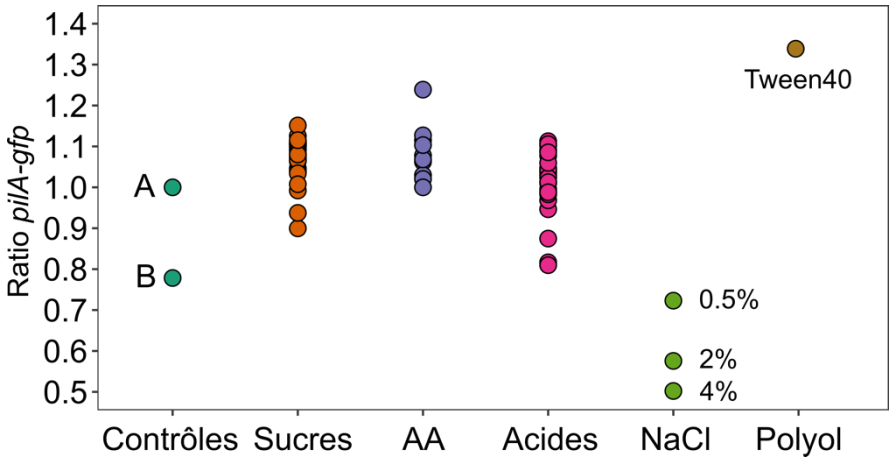

Figure 26 : Changement de facteur de la fluorescence relative de *pilA-gfp* au pic d'expression dans un milieu tryptone complété par des composés d'un microarray phénotypique par rapport à la condition de contrôle.
La condition de contrôle est composée de milieu tryptone seul (contrôle A). Les composés sont classés par catégories chimiques (AA : acides aminés). Cette florescence relative est normalisée en utilisant les changements de facteur de la souche portant la fusion transcriptionnelle *ssb-gfp* dans les mêmes conditions. L'expérience a été réalisée trois fois ; les valeurs moyennes sont représentées.

Le contrôle B semblait avoir un effet inhibiteur sur l'expression de *pilA*. L'effet de ce contrôle, qui était composé d'un milieu riche apparenté au milieu LB, a confirmé l'effet inhibiteur de la richesse en nutriments du milieu sur l'expression de *pilA* observé lors de ce travail.

La présence de chlorure de sodium dans le milieu, même à des concentrations relativement faibles, a présenté un effet inhibiteur sur l'expression de *pilA*, qui diminuait lorsque la concentration en sels est augmentée.

La plupart des milieux testés ont exercé une influence très limitée sur l'expression de *pilA*. Les sucres semblaient avoir un effet discrètement activateur (changement de facteur compris entre 1 et 1,2), à l'exception de la dextrine et du glucose (facteur de 0,90 et 0,94, respectivement).

Les acides aminés testés ne présentaient également pas d'effet remarquable, sauf l'acide L-glutamique (facteur de 1,24).

Enfin, le Tween 40, un polyol, a révélé un effet activateur marqué du gène *pilA* (facteur de 1,34).

2.4. Effet de la délétion du gène *comEC*

Il a été démontré qu'une délétion de *comEC* entrainait une abolition de la motilité en plus de son rôle connu et conservé dans l'import d'ADN exogène (182). Nous avons donc entrepris d'étudier l'effet de la délétion de ce gène sur l'expression de la construction *pilA-gfp*. Un suivi de fluorescence a donc été réalisé pour les souches porteuses de la construction *pilA-gfp* dans un fond génétique sauvage (CT) ou présentant une délétion pour le gène *comEC* (*ΔcomEC*), en milieu tryptone (**figure 27**).

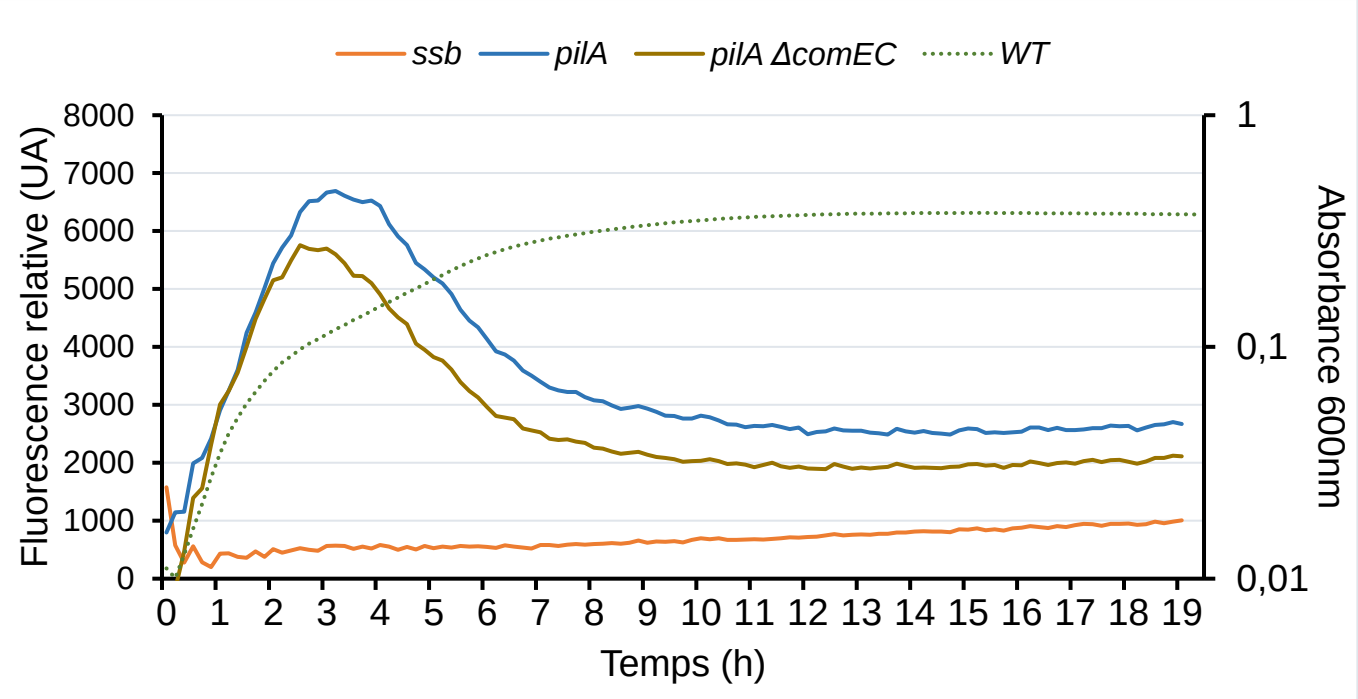

Figure 27 : évolution de la fluorescence relative des fusions *pilA-gfp* et *pilA-gfp* Δ*comEC* en milieu tryptone en fonction du temps.
A titre indicatif, l'absorbance de la souche sauvage est représentée en axe secondaire (ligne pointillée). UA : unité arbitraire ; h : heure. Une expérience représentative est présentée.

La délétion du gène *comEC* semble avoir un effet mineur sur l'expression de *pilA* puisque la souche arborant cette modification présentait un maximum de fluorescence inférieur d'un facteur 1,17 à celle de *pilA*. En outre, la cinétique de l'expression ne semblait pas impactée par une délétion de *comEC* (**tableau XI**).

Tableau XI : maximums de fluorescence relative en milieu tryptone de souches porteuses de la fusion *pilA-gfp* dans un fond génétique sauvage et délété pour le gène *comEC*.

Souche	Maximum d'absorbance (UA)	Temps (h)
pilA-gfp	6692	3,2
pilA-gfp* Δ*comEC	5698	3

UA : unité arbitraire ; h : heure

Nous avons entrepris d'approfondir l'étude de l'influence d'une délétion de *comEC* sur l'expression de *pilA*, aussi l'expérience a été renouvelée à trois reprises et avec des triplicats, dans deux milieux différents : tryptone et MMA, afin d'obtenir un nombre satisfaisant de valeurs pour une comparaison statistique (**tableau XII**).

Tableau XII : maximums de fluorescence relative des fusions *pilA-gfp* dans un fond génétique sauvage ou un mutant Δ*comEC* en milieu tryptone et MMA.

Construction	Moyenne (UA)	Valeur p
Milieu tryptone	3154	0,00399
	1980	
Milieu MMA	3652	0,00399
	1974	

En bleu, les valeurs de fluorescence de *pilA-gfp* ; en marron, les valeurs de fluorescence de *pilA-gfp* chez un mutant *ΔcomEC*. Pour savoir si la différence de fluorescence relative était significative, un test de Mann-Whitney-Wilcoxon a été réalisé (valeur *p*).

Le test statistique a mis en évidence une différence statistiquement significative entre les deux fusions dans chacun des milieux ($p<0,05$). On a alors pu supposer que le gène *comEC* conditionnait partiellement l'expression du gène *pilA*. Toutefois, la délétion de *comEC* n'était pas rédhibitoire à l'expression de *pilA*.

3. Discussion

Le gène *pilA* est principalement exprimé en début de phase exponentielle

Lors de ce travail, nous avons observé que l'expression de *pilA* augmentait rapidement dès le début de l'expérience, avant d'atteindre un maximum au bout de trois heures et de diminuer progressivement jusqu'à la fin de l'expérience. Cette dynamique observée est en concordance avec les travaux de Vesel et Blokesch (184). En effet, leur étude montrait également un maximum d'expression du gène *pilA* de la souche *A. baumannii* A118 atteint en début de phase exponentielle de croissance bactérienne. Celui-ci était toutefois atteint plus tôt au cours de leurs conditions expérimentales (90 minutes) que la nôtre (190 minutes), et coïncidait avec le pic de transformation de la bactérie. Concernant notre étude, des tests de transformation de AB5075 seraient intéressants afin de vérifier s'il y a effectivement une corrélation temporelle entre l'expression du gène *pilA* et la capacité de AB5075 à effectuer la transformation.

D'une manière intéressante, ces résultats ont contrasté avec une autre espèce du genre *Acinetobacter*. En effet, il a été montré que dans le cas de *A. baylyi*, l'expression de

comP, homologue de *pilA*, diminuait dès la dilution de la bactérie dans un milieu de culture, avant d'atteindre une expression minimale au milieu de la phase de croissance exponentielle, puis d'augmenter en fin d'expérience (221), soit une dynamique opposée à celle de *pilA*.

La richesse en nutriments du milieu conditionne l'expression de *pilA*

Un autre point important de cette étude était l'influence du milieu sur l'expression du gène *pilA*. En effet, nous avons observé que la culture dans un milieu pauvre était associée à une plus grande expression de *pilA*.

Cette influence du milieu a été précédemment décrite et se retrouve également chez d'autres bactéries. Dans le cas d'*Haemophilus influenzae*, la déplétion de certains sucres dans le milieu active une voie métabolique médiée par la protéine réceptrice de l'AMPc (CRP, cAMP receptor protein) et Sxy, activant alors la transcription de gènes de compétence (216,217). Ces auteurs ont observé que le transfert de bactéries *H. influenzae* dans un milieu pauvre entraînait en outre une surexpression de gènes (*comF*, *rec-2*, *dprA*) impliqués dans la transformation (217). Nous pouvons supposer que la carence en nutriments a déclenché la compétence par le biais, entre autres, d'une surexpression de *pilA* chez *A. baumannii*.

Concernant la bactérie *Vibrio cholerae*, la présence de chitine dans le milieu permet des interactions entre le répresseur CytR et la CRP, ayant pour conséquence l'inactivation de facteurs inhibant la transformation (218).

De manière similaire, Bossé et al. ont mis en évidence que la fréquence de transformation de la souche d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* HS143 était drastiquement augmentée après transfert sur un milieu carencé (219).

Enfin, il est intéressant de noter que, chez *Pseudomonas stutzeri*, il a été observé que lorsqu'un substrat parmi l'ammonium, le phosphate et le pyruvate était ajouté en quantité limitante, la fréquence de transformation était très augmentée, alors qu'une limitation de deux ou trois de ces substrats inhibait la transformation (220). Il serait intéressant d'effectuer un test similaire chez *A. baumannii* AB5075 afin d'établir un seuil

de carence nutritionnelle en-dessous duquel la fréquence de transformation ne serait plus augmentée par une déplétion en substrats.

Influence de l'apport de sucres au milieu

Nous avons remarqué, au cours de ce travail, que la présence de sucres (d'abord du glucose en milieu MMA, puis divers glucides dans les tests sur les plaques commerciales) dans le milieu avait un effet neutre sur l'expression de *pilA*. Ces résultats corroborent ceux de Hu et al. (222) qui, dans une étude menée en 2019 sur *A. baumannii* HN85, n'avaient pas observé d'influence de la concentration en saccharose (de zéro à 320 millimolaires) sur la transformabilité de la souche.

Le chlorure de sodium inhibe l'expression de *pilA* d'une manière concentration-dépendante

Nous avons observé que les gradients de chlorure de sodium (NaCl) présents sur la plaque avaient un net effet inhibiteur sur l'expression de *pilA*. Ces derniers variaient de 0,5 à 4 % et entrainaient une diminution de l'expression de *pilA* jusqu'à un facteur deux. De manière intéressante, une autre étude (222) a testé l'influence d'une différente gamme de concentration de NaCl (de 0,2 à 0,6%) a conclu à une inhibition concentration-dépendante de la transformation de *A. baumannii* HN85 par le chlorure de sodium. Cette inhibition pourrait ainsi être due à l'inhibition de l'expression du gène *pilA* que nous observons dans notre étude. Il serait intéressant de tester l'expression de *pilA*, ainsi que la transformation et la motilité d'*A. baumannii* AB5075 dans d'autres milieux salins.

Le polyol présente un effet activateur inattendu sur l'expression de *pilA*

Un des milieux, le monolaurate de polyoxyéthylène sorbitane à 40 unités de polyéthylène glycol (Tween 40), a retenu notre attention car l'expression de *pilA* y était particulièrement importante. Il s'agit d'un composé utilisé comme détergent non ionique pour la lyse et le fractionnement cellulaire. Une autre étude a mis en évidence

une augmentation discrète de la croissance de certaines souches d'*A. calcoaceticus* en présence de Tween 40 (223), sans pour autant étudier la fréquence de transformation. Chez *Bacillus cereus*, il a été montré que l'ajout de Tween 20 augmentait grandement la synthèse de protéines du corps du flagelle, permettant une motilité accrue de cette bactérie. De plus, l'expression de protéines transmembranaires était également augmentée en présence de ce polyol (224). Des tests de motilité et de transformation dans un milieu contenant du Tween seraient donc intéressants à effectuer chez *A. baumannii*. Bien que cette bactérie ne possède pas de flagelle, l'expression accrue de *pilA* en présence de polyol pourrait influencer sa motilité twitching.

La délétion de *comEC* réprime partiellement l'expression de *pilA*

Wilharm et al. ont montré qu'une délétion du gène *comEC*, gène essentiel à la transformation naturelle, réduisait fortement la mobilité à la surface et suggérant que ce gène soit, de manière inattendue, impliqué dans l'autre fonction associée au pili de type IV à savoir la motilité twitching à l'interphase (182). Nous nous sommes demandé si la délétion de *comEC* interférait avec l'expression de *pilA*, codant pour la piline majeure du T4P, qui joue un rôle clé à la fois dans la transformation et la motilité twitching. Nous avons observé dans divers milieux que l'expression du gène *pilA* était significativement diminuée lorsque le gène *comEC* était délété. Nos résultats complètent ceux obtenus par Wilharm et al., en suggérant que l'inactivation de *comEC* entraine une diminution de l'expression du gène *pilA* se traduisant par une altération de la formation du T4P, et donc une limitation de la motilité twitching.

Conclusion

CONCLUSION

En l'espace de 40 ans, la bactérie *Acinetobacter baumannii* est passée d'agent infectieux de faible ampleur à problème majeur de santé publique. Ce pathogène, responsable notamment de pneumonies, bactériémies, infections urinaires ou encore méningites est devenu particulièrement difficile à éradiquer.
En cause, sa capacité à mettre en échec l'immense majorité des traitements antibiotiques couramment utilisés. En effet, de nombreuses souches d'*A. baumannii* sont aujourd'hui résistantes à une grande variété d'antibiotiques, y compris ceux utilisés en dernier recours.
Si la liste — de plus en plus restreinte — d'antibiotiques efficaces contre cette bactérie inquiète, la vitesse de propagation de gènes de résistance parmi les souches, humaines comme animales, est également remarquable.

Une des clés de cette transmission rapide est le transfert horizontal de gènes, et en particulier la transformation naturelle, très répandue au sein cette espèce. Si ce mécanisme est connu depuis presque un siècle, il n'a été mis en évidence qu'en 2013 chez *A. baumannii*.
Les mécanismes moléculaires de la transformation naturelle sont très conservés au sein du monde bactérien, toutefois la régulation de ce phénomène demeure obscure chez *A. baumannii*, pour qui la fréquence de transformation varie beaucoup parmi les souches. Plusieurs gènes sont impliqués dans ce mécanisme, et l'étude de leur expression dans différents contextes est l'objet de ce travail, qui vise à étudier les conditions inductrices de la transformation.

Grâce au développement d'une plateforme d'expression chromosomique, nous avons exploré des conditions de régulation de gènes impliqués dans la transformation. Ce développement méthodologique a permis de mettre en évidence l'expression singulière d'un gène de transformation, *pilA*, dont le produit est un constituant majeur de l'appendice de captation de l'ADN exogène.
Nos expériences confirment une expression transitoire de ce gène et révèlent une expression dépendante de la richesse nutritionnelle du milieu. La composition du milieu a alors été criblée afin d'identifier des composés inducteurs ou répresseurs de l'expression de ce gène. Ce criblage a mis en évidence que le chlorure de sodium avait un effet répresseur de l'expression de *pilA*.

Cependant, la seule expression de ce gène est insuffisante pour conclure au rôle régulateur de la composition du milieu sur l'efficacité de transformation. Ainsi, ces travaux doivent maintenant être complétés par des expériences de transformation bactérienne dans ces différents milieux afin de conclure au rôle de leur composition dans la capacité de cette bactérie à acquérir des gènes exogènes.

Au-delà de la composition de milieu de culture de laboratoire, nos résultats interrogent sur les environnements naturels plus propices à déclencher le mécanisme de transfert horizontal et dans notre capacité à interférer avec ce processus d'acquisition de la résistance.

Bibliographie

1. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet. 12 févr 2022;399(10325):629-55.

2. Résistance aux antimicrobiens [Internet]. [cité 2 août 2022]. Disponible sur: https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance

3. Tacconelli E. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development. 28 févr 2017 [cité 13 juill 2022]; Disponible sur: https://policycommons.net/artifacts/1818147/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-to-guide-research-discovery-and-development/2555608/

4. Rice LB. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. The Journal of Infectious Diseases. 15 avr 2008;197(8):1079-81.

5. Richet H, Fournier PE. Nosocomial Infections Caused by Acinetobacter baumannii A Major Threat Worldwide. Infection Control & Hospital Epidemiology. juill 2006;27(7):645-6.

6. Beijerinck M. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. Versl Koninklijke Akad Wetensch Amsterdam. 1911;

7. Brisou J, Prevot A. [Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under Acromobacter group]. Annales de l'Institut Pasteur. juin 1954;86(6):722-8.

8. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus Acinetobacter). J Bacteriol. mai 1968;95(5):1520-41.

9. Lessel E. Subcommittee on nomenclature of Moraxella and allied bacteria. Int J Syst Bacteriol. 1971;21:213-4.

10. Skerman VBD, McGOWAN V, Sneath' PHA. Approved Lists of Bacterial Names. INTJ SYSTBACTERIOL. 1980;30:196.

11. Bouvet PJM, Grimont PAD. Taxonomy of the Genus Acinetobacter with the Recognition of Acinetobacter baumannii sp. nov. Acinetobacter haemolyticus sp. nov. Acinetobacter johnsonii sp. nov. and Acinetobacter junii sp. nov. and Emended Descriptions of Acinetobacter calcoaceticus and Acinetobacter lwofii. group of. 1986;13.

12. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Genus Acinetobacter [Internet]. 2022. Disponible sur: https://lpsn.dsmz.de/genus/acinetobacter

13. Hu Y, Feng Y, Qin J, Zhang X, Zong Z. Acinetobacter chinensis, a novel Acinetobacter species, carrying blaNDM-1, recovered from hospital sewage. Journal of Microbiology. 1 mai 2019;57(5):350-5.

14. Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, Sedo O, Brisse S, Higgins PG. Acinetobacter seifertii sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex isolated from human clinical specimens. Int J Syst Evol Microbiol. mars 2015;65(Pt 3):934-42.

15. Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of Acinetobacter species. J Clin Microbiol. févr 1991;29(2):277-82.

16. Cosgaya C, Marí-Almirall M, Van Assche A, Fernández-Orth D, Mosqueda N, Telli M, et al. Acinetobacter dijkshoorniae sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex mainly recovered from clinical samples in different countries. Int J Syst Evol Microbiol. oct 2016;66(10):4105-11.

17. Saffarian A, Touchon M, Mulet C, Tournebize R, Passet V, Brisse S, et al. Comparative genomic analysis of Acinetobacter strains isolated from murine colonic crypts. BMC Genomics. 11 juill 2017;18.

18. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: Emergence of a Successful Pathogen. Clin Microbiol Rev. 1 juill 2008;21(3):538.

19. Peng SY, You RI, Lai MJ, Lin NT, Chen LK, Chang KC. Highly potent antimicrobial modified peptides derived from the Acinetobacter baumannii phage endolysin LysAB2. Sci Rep. déc 2017;7(1):11477.

20. Gupta N, Gandham N, Jadhav S, Mishra RN. Isolation and identification of Acinetobacter species with special reference to antibiotic resistance. J Nat Sci Biol Med. 2015;6(1):159-62.

21. Tripathi P, Agrawal G, Gajbhiye S. Clinical and antimicrobial profile of Acinetobacter spp.: An emerging nosocomial superbug. Adv Biomed Res. 2014;3(1):13.

22. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of Acinetobacter. Clinical Microbiology and Infection. nov 2005;11(11):868-73.

23. Al Atrouni A, Joly-Guillou ML, Hamze M, Kempf M. Reservoirs of Non-baumannii Acinetobacter Species. Front Microbiol [Internet]. 1 févr 2016 [cité 16 juin 2022];7. Disponible sur: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00049

24. Wiedmann-al-Ahmad M, Tichy HV, Schön G. Characterization of Acinetobacter type strains and isolates obtained from wastewater treatment plants by PCR fingerprinting. Appl Environ Microbiol. nov 1994;60(11):4066-71.

25. Geiger A, Fardeau ML, Grebaut P, Vatunga G, Josénando T, Herder S, et al. First isolation of Enterobacter, Enterococcus, and Acinetobacter spp. as inhabitants of

the tsetse fly (Glossina palpalis palpalis) midgut. Infect Genet Evol. déc 2009;9(6):1364-70.

26. Rafei R, Dabboussi F, Hamze M, Eveillard M, Lemarié C, Gaultier MP, et al. Molecular Analysis of Acinetobacter baumannii Strains Isolated in Lebanon Using Four Different Typing Methods. Hakami RM, éditeur. PLoS ONE. 26 déc 2014;9(12):e115969.

27. Berlau J, Aucken HM, Houang E, Pitt TL. Isolation of Acinetobacter spp including A. baumannii from vegetables: implications for hospital-acquired infections. Journal of Hospital Infection. 1 juill 1999;42(3):201-4.

28. Chu YW, Leung CM, Houang ETS, Ng KC, Leung CB, Leung HY, et al. Skin Carriage of Acinetobacters in Hong Kong. J Clin Microbiol. sept 1999;37(9):2962-7.

29. Maravić A, Skočibušić M, Fredotović Ž, Šamanić I, Cvjetan S, Knezović M, et al. Urban riverine environment is a source of multidrug-resistant and ESBL-producing clinically important Acinetobacter spp. Environ Sci Pollut Res Int. févr 2016;23(4):3525-35.

30. Wang B, Sun D. Detection of NDM-1 carbapenemase-producing Acinetobacter calcoaceticus and Acinetobacter junii in environmental samples from livestock farms. J Antimicrob Chemother. févr 2015;70(2):611-3.

31. Patil JR, Chopade BA. Distribution and in vitro antimicrobial susceptibility of Acinetobacter species on the skin of healthy humans. Natl Med J India. août 2001;14(4):204-8.

32. Aygün G, Demirkiran O, Utku T, Mete B, Ürkmez S, Yılmaz M, et al. Environmental contamination during a carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii outbreak in an intensive care unit. Journal of Hospital Infection. 1 déc 2002;52(4):259-62.

33. Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M, Stefanik D, Higgins PG, Edmond MB, et al. Nosocomial bloodstream infections due to Acinetobacter baumannii, Acinetobacter pittii and Acinetobacter nosocomialis in the United States. Journal of Infection. mars 2012;64(3):282-90.

34. Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev. avr 1996;9(2):148-65.

35. Wisplinghoff H, Schmitt R, Wöhrmann A, Stefanik D, Seifert H. Resistance to disinfectants in epidemiologically defined clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Journal of Hospital Infection. 1 juin 2007;66(2):174-81.

36. Tomaras AP, Dorsey CW, Edelmann RE, Actis LAY 2003. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by Acinetobacter baumannii: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. Microbiology. 149(12):3473-84.

37. Morgan DJ, Liang SY, Smith CL, Johnson JK, Harris AD, Furuno JP, et al. Frequent Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii Contamination of Gloves, Gowns, and Hands of Healthcare Workers. Infection Control & Hospital Epidemiology. juill 2010;31(7):716-21.

38. Djeribi R, Boucherit Z, Bouchloukh W, Zouaoui W, Latrache H, Hamadi F, et al. A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of Acinetobacter baumannii. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 1 févr 2013;102:540-5.

39. Aucken H, Berlau J, Malnick H, Pitt T. Distribution of Acinetobacter Species on Skin of Healthy Humans. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 23 avr 1999;18(3):179-83.

40. Zeana C, Larson E, Sahni J, Bayuga SJ, Wu F, Della-Latta P. The Epidemiology of Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii Does the Community Represent a Reservoir? Infection Control & Hospital Epidemiology. avr 2003;24(4):275-9.

41. Dijkshoorn L, van Aken E, Shunburne L, van der Reijden TJK, Bernards AT, Nemec A, et al. Prevalence of Acinetobacter baumannii and other Acinetobacter spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. Clinical Microbiology and Infection. avr 2005;11(4):329-32.

42. Rafei R, Hamze M, Pailhoriès H, Eveillard M, Marsollier L, Joly-Guillou ML, et al. Extrahuman epidemiology of Acinetobacter baumannii in Lebanon. Appl Environ Microbiol. avr 2015;81(7):2359-67.

43. Houang ETS, Chu YW, Leung CM, Chu KY, Berlau J, Ng KC, et al. Epidemiology and Infection Control Implications of *Acinetobacter* spp. in Hong Kong. J Clin Microbiol. janv 2001;39(1):228-34.

44. Choi JY, Kim Y, Ko EA, Park YK, Jheong WH, Ko G, et al. Acinetobacter species isolates from a range of environments: species survey and observations of antimicrobial resistance. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. oct 2012;74(2):177-80.

45. Camp C, Tatum OL. A Review of *Acinetobacter baumannii* as a Highly Successful Pathogen in Times of War. Lab Med. nov 2010;41(11):649-57.

46. Eveillard M, Kempf M, Belmonte O, Pailhoriès H, Joly-Guillou ML. Reservoirs of Acinetobacter baumannii outside the hospital and potential involvement in emerging human community-acquired infections. International Journal of Infectious Diseases. oct 2013;17(10):e802-5.

47. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Nat Rev Microbiol. déc 2007;5(12):939-51.

48. van der Kolk JH, Endimiani A, Graubner C, Gerber V, Perreten V. Acinetobacter in veterinary medicine, with an emphasis on Acinetobacter baumannii. Journal of Global Antimicrobial Resistance. 1 mars 2019;16:59-71.

49. Doi Y, Murray GL, Peleg AY. Acinetobacter baumannii: Evolution of Antimicrobial Resistance—Treatment Options. Semin Respir Crit Care Med. févr 2015;36(1):85-98.

50. Francey T, Gaschen F, Nicolet J, Burnens AP. The Role of Acinetobacter baumannii as a Nosocomial Pathogen for Dogs and Cats in an Intensive Care Unit. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2000;14(2):177-83.

51. Vaneechoutte M, Devriese LA, Dijkshoorn L, Lamote B, Deprez P, Verschraegen G, et al. Acinetobacter baumannii-Infected Vascular Catheters Collected from Horses in an Equine Clinic. Journal of Clinical Microbiology. nov 2000;38(11):4280-1.

52. Endimiani A, Hujer KM, Hujer AM, Bertschy I, Rossano A, Koch C, et al. Acinetobacter baumannii isolates from pets and horses in Switzerland: molecular characterization and clinical data. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. oct 2011;66(10):2248-54.

53. Belmonte O, Pailhoriès H, Kempf M, Gaultier MP, Lemarié C, Ramont C, et al. High prevalence of closely-related Acinetobacter baumannii in pets according to a multicentre study in veterinary clinics, Reunion Island. Veterinary Microbiology. 4 juin 2014;170(3):446-50.

54. Webb HE, Bugarel M, Bakker HC den, Nightingale KK, Granier SA, Scott HM, et al. Carbapenem-Resistant Bacteria Recovered from Faeces of Dairy Cattle in the High Plains Region of the USA. PLOS ONE. 29 janv 2016;11(1):e0147363.

55. Al Bayssari C, Dabboussi F, Hamze M, Rolain JM. Emergence of carbapenemase-producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii in livestock animals in Lebanon. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. mars 2015;70(3):950-1.

56. Ewers C, Klotz P, Leidner U, Stamm I, Prenger-Berninghoff E, Göttig S, et al. OXA-23 and ISAba1–OXA-66 class D β-lactamases in Acinetobacter baumannii isolates from companion animals. International Journal of Antimicrobial Agents. 1 janv 2017;49(1):37-44.

57. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernández-Hinojosa E, Aldabó-Pallás T, Cayuela A, Marquez-Vácaro JA, et al. Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. Intensive Care Med. 1 mai 2005;31(5):649-55.

58. Luna CM, Aruj PK. Nosocomial Acinetobacter pneumonia. Respirology. 2007;12(6):787-91.

59. Anstey NM, Currie BJ, Hassell M, Palmer D, Dwyer B, Seifert H. Community-Acquired Bacteremic Acinetobacter Pneumonia in Tropical Australia Is Caused by Diverse Strains of Acinetobacter baumannii, with Carriage in the Throat in At-Risk Groups. Journal of Clinical Microbiology. févr 2002;40(2):685-6.

60. Sieniawski K, Kaczka K, Rucińska M, Gagis L, Pomorski L. Acinetobacter baumannii nosocomial infections. Pol Przegl Chir. 1 sept 2013;85(9):483-90.

61. Weinstein RA, Gaynes R, Edwards JR, National Nosocomial Infections Surveillance System. Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli. Clinical Infectious Diseases. 15 sept 2005;41(6):848-54.

62. Kim MH, Ahn J, Ku N, Han SH, Choi JY, Song Y. A Case of Infective Endocarditis Caused by Community-Acquired Acinetobacter baumannii. Korean Journal of Medicine. 1 janv 2013;84:313.

63. Levy J, Oshry T, Rabinowitz R, Lifshitz T. Acinetobacter corneal graft ulcer and endophthalmitis: report of two cases. Can J Ophthalmol. févr 2005;40(1):79-82.

64. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. Clinical Infectious Diseases. 1 août 2004;39(3):309-17.

65. Briggs S, Ellis-Pegler R, Raymond N, Thomas M, Wilkinson L. Gram-negative bacillary meningitis after cranial surgery or trauma in adults. Scand J Infect Dis. 2004;36(3):165-73.

66. Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. Acinetobacter baumannii meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1 juill 2007;60(1):197-9.

67. Trottier V, Segura PG, Namias N, King D, Pizano LR, Schulman CI. Outcomes of Acinetobacter baumannii Infection in Critically Ill Burned Patients. Journal of Burn Care & Research. 1 mars 2007;28(2):248-54.

68. Sebeny PJ, Riddle MS, Petersen K. Acinetobacter baumannii Skin and Soft-Tissue Infection Associated with War Trauma. Clinical Infectious Diseases. 15 août 2008;47(4):444-9.

69. Pomba C, Endimiani A, Rossano A, Saial D, Couto N, Perreten V. First Report of OXA-23-Mediated Carbapenem Resistance in Sequence Type 2 Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii Associated with Urinary Tract Infection in a Cat. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. févr 2014;58(2):1267-8.

70. Hariharan H, Gibson K, Peterson R, Frankie M, Matthew V, Daniels J, et al. Staphylococcus pseudintermedius and Staphylococcus schleiferi Subspecies coagulans from Canine Pyoderma Cases in Grenada, West Indies, and Their Susceptibility to Beta-Lactam Drugs. Veterinary Medicine International. 23 janv 2014;2014:e850126.

71. Brachelente C, Wiener D, Malik Y, Huessy D. A case of necrotizing fasciitis with septic shock in a cat caused by Acinetobacter baumannii. Vet Dermatol. déc 2007;18(6):432-8.

72. Lob SH, Hoban DJ, Sahm DF, Badal RE. Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of Acinetobacter baumannii. International Journal of Antimicrobial Agents. avr 2016;47(4):317-23.

73. Manchanda V, Sanchaita S, Singh N. Multidrug resistant acinetobacter. J Glob Infect Dis. sept 2010;2(3):291-304.

74. Lesho EP, Waterman PE, Chukwuma U, McAuliffe K, Neumann C, Julius MD, et al. The antimicrobial resistance monitoring and research (ARMoR) program: the US Department of Defense response to escalating antimicrobial resistance. Clin Infect Dis. 1 août 2014;59(3):390-7.

75. Batirel A, Balkan II, Karabay O, Agalar C, Akalin S, Alici O, et al. Comparison of colistin–carbapenem, colistin–sulbactam, and colistin plus other antibacterial agents for the treatment of extremely drug-resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. août 2014;33(8):1311-22.

76. Lopez-Cortes LE, Cisneros JM, Fernandez-Cuenca F, Bou G, Tomas M, Garnacho-Montero J, et al. Monotherapy versus combination therapy for sepsis due to multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: analysis of a multicentre prospective cohort. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1 nov 2014;69(11):3119-26.

77. Sirijatuphat R, Thamlikitkul V. Preliminary Study of Colistin versus Colistin plus Fosfomycin for Treatment of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Infections. Antimicrob Agents Chemother. sept 2014;58(9):5598-601.

78. Ku K, Pogue JM, Moshos J, Bheemreddy S, Wang Y, Bhargava A, et al. Retrospective evaluation of colistin versus tigecycline for the treatment of Acinetobacter baumannii and/or carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. Am J Infect Control. déc 2012;40(10):983-7.

79. Lee YT, Tsao SM, Hsueh PR. Clinical outcomes of tigecycline alone or in combination with other antimicrobial agents for the treatment of patients with healthcare-associated multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. sept 2013;32(9):1211-20.

80. Freire AT, Melnyk V, Kim MJ, Datsenko O, Dzyublik O, Glumcher F, et al. Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. Diagn Microbiol Infect Dis. oct 2010;68(2):140-51.

81. Ye JJ, Lin HS, Yeh CF, Wu YM, Huang PY, Yang CC, et al. Tigecycline-based versus sulbactam-based treatment for pneumonia involving multidrug-resistant Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. BMC Infect Dis. 5 août 2016;16:374.

82. Iii JPL, Zhanel GG, Clark NM. Infections Due to Acinetobacter baumannii in the ICU: Treatment Options. Semin Respir Crit Care Med. juin 2017;38(3):311-25.

83. Betrosian AP, Frantzeskaki F, Xanthaki A, Douzinas EE. Efficacy and safety of high-dose ampicillin/sulbactam vs. colistin as monotherapy for the treatment of multidrug resistant Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia. Journal of Infection. juin 2008;56(6):432-6.

84. Oliveira MS, Prado GVB, Costa SF, Grinbaum RS, Levin AS. Ampicillin/sulbactam compared with polymyxins for the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Acinetobacter spp. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 13 mars 2008;61(6):1369-75.

85. Wood GC, Hanes SD, Croce MA, Fabian TC, Boucher BA. Comparison of ampicillin-sulbactam and imipenem-cilastatin for the treatment of acinetobacter ventilator-associated pneumonia. Clin Infect Dis. 2002 Jun 1;34(11):1425-30. doi: 10.1086/340055. Epub 2002 Apr 30. PMID: 12015687.

86. Santimaleeworagun et al. W. In vitro activity of colistin or sulbactam in combination with fosfomycin or imipenem against clinical isolates of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii producing OXA-23 carbapenemases. The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health. 2011;(42):890-900.

87. Jung SY, Lee SH, Lee SY, Yang S, Noh H, Chung EK, et al. Antimicrobials for the treatment of drug-resistant Acinetobacter baumannii pneumonia in critically ill patients: a systemic review and Bayesian network meta-analysis. Crit Care. déc 2017;21(1):319.

88. EMA. Categorisation of antibiotics used in animals promotes responsible use to protect public and animal health [Internet]. European Medicines Agency. 2020 [cité 9 oct 2022]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/news/categorisation-antibiotics-used-animals-promotes-responsible-use-protect-public-animal-health

89. ANSES. Index des RCP [Internet]. [cité 11 sept 2022]. Disponible sur: http://www.ircp.anmv.anses.fr/results.aspx

90. Jean-Yves Madec. La résistance à la colistine : La résistance à la colistine en médecine vétérinaire. *Les cahiers de la Recherche*. *Santé, Environnement, Travail*, 2017, Résistances et méthodes alternatives, 10, pp.36-39

91. Gay et al. Point d'actualité sur la colistine. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation. 2017Apr;78:18–19.

92. ANSES 2021. Résapath - Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, bilan 2020 [Internet]. 2021. Disponible sur: https://resapath.anses.fr/resapath_uploadfiles/files/Documents/Rapport%20annuel/2020_RESAPATH%20Rapport%20Annuel_FR.pdf

93. Wright JG, Jung S, Holman RC, Marano NN, McQuiston JH. Infection control practices and zoonotic disease risks among veterinarians in the United States.

Journal of the American Veterinary Medical Association. 15 juin 2008;232(12):1863-72.

94. Guardabassi L, Prescott JF. Antimicrobial Stewardship in Small Animal Veterinary Practice: From Theory to Practice. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 1 mars 2015;45(2):361-76.

95. Abdul-Mutakabbir JC, Griffith NC, Shields RK, Tverdek FP, Escobar ZK. Contemporary Perspective on the Treatment of Acinetobacter baumannii Infections: Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. Infect Dis Ther. déc 2021;10(4):2177-202.

96. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, Woodford N. In Vitro Activity of Eravacycline against Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. juin 2016;60(6):3840-4.

97. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant Acinetobacter baumannii Infection. Antimicrob Agents Chemother. oct 2017;61(10):e00954-17.

98. Shen GH, Wang JL, Wen FS, Chang KM, Kuo CF, Lin CH, et al. Isolation and Characterization of ϕkm18p, a Novel Lytic Phage with Therapeutic Potential against Extensively Drug Resistant Acinetobacter baumannii. PLOS ONE. 5 oct 2012;7(10):e46537.

99. Merabishvili M, Vandenheuvel D, Kropinski AM, Mast J, Vos DD, Verbeken G, et al. Characterization of Newly Isolated Lytic Bacteriophages Active against Acinetobacter baumannii. PLOS ONE. 11 août 2014;9(8):e104853.

100. Gellings PS, Wilkins AA, Morici LA. Recent Advances in the Pursuit of an Effective Acinetobacter baumannii Vaccine. Pathogens. déc 2020;9(12):1066.

101. Grauman Å. The publics' perspective on cardiovascular risk information: Implications for practice [Internet]. Acta Universitatis Upsaliensis; 2021 [cité 11 sept 2022]. (Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine; vol. 1710). Disponible sur: http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:uu:diva-427327

102. Abraham EP, Chain E. An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. Nature. 1 déc 1940;146(3713):837-837.

103. Poirel L, Corvec S, Rapoport M, Mugnier P, Petroni A, Pasteran F, et al. Identification of the Novel Narrow-Spectrum β-Lactamase SCO-1 in Acinetobacter spp. from Argentina. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. juin 2007;51(6):2179-84.

104. Martinez T, Martinez I, Vazquez GJ, Aquino EE, Robledo IEY 2016. Genetic environment of the KPC gene in Acinetobacter baumannii ST2 clone from Puerto

Rico and genomic insights into its drug resistance. Journal of Medical Microbiology. 65(8):784-92.

105. Bonnin RA, Nordmann P, Potron A, Lecuyer H, Zahar JR, Poirel L. Carbapenem-Hydrolyzing GES-Type Extended-Spectrum β-Lactamase in Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. janv 2011;55(1):349-54.

106. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, et al. Comparative Genomics of Multidrug Resistance in Acinetobacter baumannii. PLOS Genetics. 13 janv 2006;2(1):e7.

107. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. Acinetobacter baumannii Antibiotic Resistance Mechanisms. Pathogens. mars 2021;10(3):373.

108. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo-β-lactamases: a last frontier for β-lactams? The Lancet Infectious Diseases. 1 mai 2011;11(5):381-93.

109. López C, Ayala JA, Bonomo RA, González LJ, Vila AJ. Protein determinants of dissemination and host specificity of metallo-β-lactamases. Nat Commun. 9 août 2019;10(1):3617.

110. Hamidian M, Hall RM. ISAba1 targets a specific position upstream of the intrinsic ampC gene of Acinetobacter baumannii leading to cephalosporin resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1 nov 2013;68(11):2682-3.

111. Beceiro A, Bou G. Class C β-Lactamases: an increasing problem worldwide. Reviews and Research in Medical Microbiology. oct 2004;15(4):141-52.

112. Rodríguez-Martínez JM, Poirel L, Nordmann P. Genetic and Functional Variability of AmpC-Type β-Lactamases from Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. nov 2010;54(11):4930-3.

113. Ingti B, Upadhyay S, Hazarika M, Khyriem AB, Paul D, Bhattacharya P, et al. Distribution of carbapenem resistant Acinetobacter baumannii with blaADC-30 and induction of ADC-30 in response to beta-lactam antibiotics. Research in Microbiology. 1 avr 2020;171(3):128-33.

114. Kuo SC, Lee YT, Yang Lauderdale TL, Huang WC, Chuang MF, Chen CP, et al. Contribution of Acinetobacter-derived cephalosporinase-30 to sulbactam resistance in Acinetobacter baumannii. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2015 [cité 23 juin 2022];6. Disponible sur: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2015.00231

115. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, Epidemiology, and Genetics of Class D β-Lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. janv 2010;54(1):24-38.

116. Wong MH yin, Chan BK wai, Chan EW chi, Chen S. Over-Expression of ISAba1-Linked Intrinsic and Exogenously Acquired OXA Type Carbapenem-Hydrolyzing-Class D-ß-Lactamase-Encoding Genes Is Key Mechanism Underlying Carbapenem Resistance in Acinetobacter baumannii. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2019

[cité 23 juin 2022];10. Disponible sur: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.02809

117. Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Juárez Vignon-Whaley JJ, Abello Vaamonde JA, Padró Alonzo LA, Rivera Reséndiz A, et al. Acinetobacter baumannii Resistance: A Real Challenge for Clinicians. Antibiotics. avr 2020;9(4):205.

118. Tahbaz SV, Azimi L, Lari AR. Characterization of aminoglycoside resistance mechanisms in Acinetobacter Baumannii isolates from burn wound colonization. Ann Burns Fire Disasters. 30 juin 2019;32(2):115-21.

119. He T, Wang R, Liu D, Walsh TR, Zhang R, Lv Y, et al. Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans. Nat Microbiol. sept 2019;4(9):1450-6.

120. Wang L, Liu D, Lv Y, Cui L, Li Y, Li T, et al. Novel Plasmid-Mediated tet(X5) Gene Conferring Resistance to Tigecycline, Eravacycline, and Omadacycline in a Clinical Acinetobacter baumannii Isolate. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 20 déc 2019;64(1):e01326-19.

121. Xu L, Zhou Y, Niu S, Liu Z, Zou Y, Yang Y, et al. A novel inhibitor of monooxygenase reversed the activity of tetracyclines against tet(X3)/tet(X4)-positive bacteria. eBioMedicine [Internet]. 1 avr 2022 [cité 24 juin 2022];78. Disponible sur: https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(22)00127-X/fulltext

122. Pathogen Detection Microbial Browser for Identification of Genetic and Genomic Elements (MicroBIGG-E)- Pathogen Detection - NCBI [Internet]. [cité 24 juin 2022]. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/microbigge/#

123. Garneau-Tsodikova S, Labby KJ. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. Med Chem Commun. 20 janv 2016;7(1):11-27.

124. Li W, Atkinson GC, Thakor NS, Allas Ü, Lu C chao, Chan KY, et al. Mechanism of tetracycline resistance by ribosomal protection protein Tet(O). Nat Commun. 12 févr 2013;4(1):1477.

125. Ribera A, Ruiz J, Vila J. Presence of the Tet M determinant in a clinical isolate of Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. juill 2003;47(7):2310-2.

126. Ardebili A, Lari AR, Beheshti M, Lari ER. Association between mutations in gyrA and parC genes of Acinetobacter baumannii clinical isolates and ciprofloxacin resistance. Iran J Basic Med Sci. juin 2015;18(6):623-6.

127. Leclercq R. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. Clinical Infectious Diseases. 15 févr 2002;34(4):482-92.

128. Nitzan Y, Pechatnikov I, Bar-El D, Wexler H. Isolation and Characterization of Heat-Modifiable Proteins From the Outer Membrane of Porphyromonas Asaccharolytica and Acinetobacter Baumannii. Anaerobe. 1 févr 1999;5(1):43-50.

129. Uppalapati SR, Sett A, Pathania R. The Outer Membrane Proteins OmpA, CarO, and OprD of Acinetobacter baumannii Confer a Two-Pronged Defense in Facilitating Its Success as a Potent Human Pathogen. Front Microbiol. 6 oct 2020;11:589234.

130. Smani Y, Fàbrega A, Roca I, Sánchez-Encinales V, Vila J, Pachón J. Role of OmpA in the Multidrug Resistance Phenotype of Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. mars 2014;58(3):1806-8.

131. Srinivasan VB, Vaidyanathan V, Rajamohan G. AbuO, a TolC-Like Outer Membrane Protein of Acinetobacter baumannii, Is Involved in Antimicrobial and Oxidative Stress Resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. févr 2015;59(2):1236-45.

132. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-Nodulation-Cell Division-Type Efflux Pump Involved in Aminoglycoside Resistance in Acinetobacter baumannii Strain BM4454. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. déc 2001;45(12):3375-80.

133. Xu CF, Bilya SR, Xu W. adeABC efflux gene in Acinetobacter baumannii. New Microbes and New Infections. 1 juill 2019;30:100549.

134. Dou Q, Zou M, Li J, Wang H, Hu Y, Liu W. [AdeABC efflux pump and resistance of Acinetobacter baumannii against carbapenem]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 1 avr 2017;42(4):426-33.

135. Abdi SN, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Mehramouz B, Hasani A, Baghi HB, et al. AdeB efflux pump gene knockdown by mRNA mediated peptide nucleic acid in multidrug resistance Acinetobacter baumannii. Microb Pathog. févr 2020;139:103825.

136. Yan N. Structural advances for the major facilitator superfamily (MFS) transporters. Trends in Biochemical Sciences. 1 mars 2013;38(3):151-9.

137. Martí S, Fernández-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Rodríguez-Baño J, Bou G, et al. [Prevalence of the tetA and tetB genes as mechanisms of resistance to tetracycline and minocycline in Acinetobacter baumannii clinical isolates]. Enferm Infecc Microbiol Clin. févr 2006;24(2):77-80.

138. Sharma A, Sharma R, Bhattacharyya T, Bhando T, Pathania R. Fosfomycin resistance in Acinetobacter baumannii is mediated by efflux through a major facilitator superfamily (MFS) transporter—AbaF. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1 janv 2017;72(1):68-74.

139. Bay DC, Rommens KL, Turner RJ. Small multidrug resistance proteins: A multidrug transporter family that continues to grow. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1 sept 2008;1778(9):1814-38.

140. Srinivasan VB, Rajamohan G, Gebreyes WA. Role of AbeS, a Novel Efflux Pump of the SMR Family of Transporters, in Resistance to Antimicrobial Agents in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. déc 2009;53(12):5312-6.

141. Cannon RD, Lamping E, Holmes AR, Niimi K, Baret PV, Keniya MV, et al. Efflux-Mediated Antifungal Drug Resistance. Clin Microbiol Rev. avr 2009;22(2):291-321.

142. Okada U, Yamashita E, Neuberger A, Morimoto M, van Veen HW, Murakami S. Crystal structure of tripartite-type ABC transporter MacB from Acinetobacter baumannii. Nat Commun. 6 nov 2017;8:1336.

143. Greene N, Kaplan E, Crow A, Koronakis V. Antibiotic Resistance Mediated by the MacB ABC Transporter Family: A Structural and Functional Perspective. Frontiers in Microbiology. 1 mai 2018;9.

144. Kusakizako T, Miyauchi H, Ishitani R, Nureki O. Structural biology of the multidrug and toxic compound extrusion superfamily transporters. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1 déc 2020;1862(12):183154.

145. Su XZ, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. AbeM, an H+-Coupled Acinetobacter baumannii Multidrug Efflux Pump Belonging to the MATE Family of Transporters. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. oct 2005;49(10):4362-4.

146. Cecchini T, Yoon EJ, Charretier Y, Bardet C, Beaulieu C, Lacoux X, et al. Deciphering Multifactorial Resistance Phenotypes in Acinetobacter baumannii by Genomics and Targeted Label-free Proteomics *. Molecular & Cellular Proteomics. 1 mars 2018;17(3):442-56.

147. Lerminiaux NA, Cameron ADS. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. Can J Microbiol. janv 2019;65(1):34-44.

148. Wright MS, Haft DH, Harkins DM, Perez F, Hujer KM, Bajaksouzian S, et al. New Insights into Dissemination and Variation of the Health Care-Associated Pathogen Acinetobacter baumannii from Genomic Analysis. mBio. 21 janv 2014;5(1):e00963-13.

149. Da Silva GJ, Domingues S. Insights on the Horizontal Gene Transfer of Carbapenemase Determinants in the Opportunistic Pathogen Acinetobacter baumannii. Microorganisms. sept 2016;4(3):29.

150. Schwechheimer C, Kuehn MJ. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. Nat Rev Microbiol. oct 2015;13(10):605-19.

151. Fulsundar S, Harms K, Flaten GE, Johnsen PJ, Chopade BA, Nielsen KM. Gene Transfer Potential of Outer Membrane Vesicles of Acinetobacter baylyi and Effects of Stress on Vesiculation. Appl Environ Microbiol. juin 2014;80(11):3469-83.

152. Rumbo C, Fernández-Moreira E, Merino M, Poza M, Mendez JA, Soares NC, et al. Horizontal Transfer of the OXA-24 Carbapenemase Gene via Outer Membrane

Vesicles: a New Mechanism of Dissemination of Carbapenem Resistance Genes in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. juill 2011;55(7):3084-90.

153. Brinton CC. The properties of sex pili, the viral nature of « conjugal » genetic transfer systems, and some possible approaches to the control of bacterial drug resistance. CRC Crit Rev Microbiol. mai 1971;1(1):105-60.

154. von Wintersdorff CJH, Penders J, van Niekerk JM, Mills ND, Majumder S, van Alphen LB, et al. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2016 [cité 3 juill 2022];7. Disponible sur: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00173

155. Towner KJ, Evans B, Villa L, Levi K, Hamouda A, Amyes SGB, et al. Distribution of Intrinsic Plasmid Replicase Genes and Their Association with Carbapenem-Hydrolyzing Class D β-Lactamase Genes in European Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. mai 2011;55(5):2154-9.

156. Poirel L, Figueiredo S, Cattoir V, Carattoli A, Nordmann P. Acinetobacter radioresistens as a Silent Source of Carbapenem Resistance for Acinetobacter spp. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. avr 2008;52(4):1252-6.

157. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price LS, Quinn JP. Multicity Outbreak of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Isolates Producing the Carbapenemase OXA-40. Antimicrob Agents Chemother. sept 2006;50(9):2941-5.

158. Grosso F, Quinteira S, Poirel L, Novais Â, Peixe L. Role of Common blaOXA-24/OXA-40-Carrying Platforms and Plasmids in the Spread of OXA-24/OXA-40 among Acinetobacter Species Clinical Isolates. Antimicrob Agents Chemother. juill 2012;56(7):3969-72.

159. Wu TL, Ma L, Chang JC, Su LH, Chu C, Leu HS, Siu LK. Variable resistance patterns of integron-associated multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates in a surgical intensive care unit. Microb Drug Resist. 2004 Winter;10(4):292-9. doi: 10.1089/mdr.2004.10.292. PMID: 15650373.

160. Tsakris A, Ikonomidis A, Pournaras S, Tzouvelekis LS, Sofianou D, Legakis NJ, et al. VIM-1 Metallo-β-lactamase in Acinetobacter baumannii - Volume 12, Number 6—June 2006 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. [cité 11 juill 2022]; Disponible sur: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/6/05-1097_article

161. Zhang WJ, Lu Z, Schwarz S, Zhang RM, Wang XM, Si W, et al. Complete sequence of the blaNDM-1-carrying plasmid pNDM-AB from Acinetobacter baumannii of food animal origin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1 juill 2013;68(7):1681-2.

162. Bonnin RA, Rotimi VO, Al Hubail M, Gasiorowski E, Al Sweih N, Nordmann P, et al. Wide Dissemination of GES-Type Carbapenemases in Acinetobacter baumannii Isolates in Kuwait. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. janv 2013;57(1):183-8.

163. Brüssow H, Canchaya C, Hardt WD. Phages and the Evolution of Bacterial Pathogens: from Genomic Rearrangements to Lysogenic Conversion. Microbiology and Molecular Biology Reviews. sept 2004;68(3):560-602.

164. Krahn T, Wibberg D, Maus I, Winkler A, Bontron S, Sczyrba A, et al. Intraspecies Transfer of the Chromosomal Acinetobacter baumannii blaNDM-1 Carbapenemase Gene. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 22 avr 2016;60(5):3032-40.

165. Enault F, Briet A, Bouteille L, Roux S, Sullivan MB, Petit MA. Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. ISME J. janv 2017;11(1):237-47.

166. Canchaya C, Fournous G, Brüssow H. The impact of prophages on bacterial chromosomes. Molecular Microbiology. 2004;53(1):9-18.

167. Yildirim S, Thompson MG, Jacobs AC, Zurawski DV, Kirkup BC. Evaluation of Parameters for High Efficiency Transformation of Acinetobacter baumannii. Sci Rep. 25 févr 2016;6(1):22110.

168. Solomon JM, Grossman AD. Who’s competent and when: regulation of natural genetic competence in bacteria. Trends Genet. avr 1996;12(4):150-5.

169. Fontaine L, Wahl A, Fléchard M, Mignolet J, Hols P. Regulation of competence for natural transformation in streptococci. Infect Genet Evol. juill 2015;33:343-60.

170. Seitz P, Blokesch M. Cues and regulatory pathways involved in natural competence and transformation in pathogenic and environmental Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Rev. mai 2013;37(3):336-63.

171. Johnston C, Martin B, Fichant G, Polard P, Claverys JP. Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control. Nat Rev Microbiol. mars 2014;12(3):181-96.

172. Cameron ADS, Volar M, Bannister LA, Redfield RJ. RNA secondary structure regulates the translation of sxy and competence development in Haemophilus influenzae. Nucleic Acids Res. janv 2008;36(1):10-20.

173. Sun Y, Bernardy EE, Hammer BK, Miyashiro T. Competence and Natural Transformation in Vibrios. Mol Microbiol. août 2013;89(4):10.1111/mmi.12307.

174. Dorer MS, Fero J, Salama NR. DNA Damage Triggers Genetic Exchange in Helicobacter pylori. PLOS Pathogens. 29 juill 2010;6(7):e1001026.

175. Lorenz MG, Wackernagel W. Natural genetic transformation of Pseudomonas stutzeri by sand-adsorbed DNA. Arch Microbiol. 1 sept 1990;154(4):380-5.

176. Nolan LM, Turnbull L, Katrib M, Osvath SR, Losa D, Lazenby JJ, et al. Pseudomonas aeruginosa is capable of natural transformation in biofilms. Microbiology. 1 oct 2020;166(10):995-1003.

177. Maree M, Thi Nguyen LT, Ohniwa RL, Higashide M, Msadek T, Morikawa K. Natural transformation allows transfer of SCCmec-mediated methicillin resistance in Staphylococcus aureus biofilms. Nat Commun. 5 mai 2022;13(1):2477.

178. Lamb DC, Kelly DE, Masaphy S, Jones GL, Kelly SL. Engineering of heterologous cytochrome P450 in Acinetobacter sp.: application for pollutant degradation. Biochem Biophys Res Commun. 24 sept 2000;276(2):797-802.

179. Metzgar D, Bacher JM, Pezo V, Reader J, Döring V, Schimmel P, et al. Acinetobacter sp. ADP1: an ideal model organism for genetic analysis and genome engineering. Nucleic Acids Res. 2004;32(19):5780-90.

180. Ramirez MS, Don M, Merkier AK, Bistué AJS, Zorreguieta A, Centrón D, et al. Naturally Competent Acinetobacter baumannii Clinical Isolate as a Convenient Model for Genetic Studies. J Clin Microbiol. avr 2010;48(4):1488-90.

181. Godeux AS, Lupo A, Haenni M, Guette-Marquet S, Wilharm G, Laaberki MH, et al. Fluorescence-Based Detection of Natural Transformation in Drug-Resistant Acinetobacter baumannii. J Bacteriol. 10 sept 2018;200(19):e00181-18.

182. Wilharm G, Piesker J, Laue M, Skiebe E. DNA Uptake by the Nosocomial Pathogen Acinetobacter baumannii Occurs during Movement along Wet Surfaces. Journal of Bacteriology. 15 sept 2013;195(18):4146-53.

183. Domingues S, Rosário N, Cândido Â, Neto D, Nielsen KM, Da Silva GJ. Competence for Natural Transformation Is Common among Clinical Strains of Resistant Acinetobacter spp. Microorganisms. 24 janv 2019;7(2):30.

184. Vesel N, Blokesch M. Pilus Production in *Acinetobacter baumannii* Is Growth Phase Dependent and Essential for Natural Transformation. Silhavy TJ, éditeur. J Bacteriol. 25 janv 2021;203(8):e00034-21, /jb/203/8/JB.00034-21.atom.

185. Cruze JA, Singer JT, Finnerty WR. Conditions for quantitative transformation in Acinetobacter calcoaceticus. Current Microbiology. 1 mai 1979;3(3):129-32.

186. Domingues S, Harms K, Fricke WF, Johnsen PJ, da Silva GJ, Nielsen KM. Natural Transformation Facilitates Transfer of Transposons, Integrons and Gene Cassettes between Bacterial Species. PLoS Pathog. 2 août 2012;8(8):e1002837.

187. Hamidian M, Hawkey J, Wick R, Holt KE, Hall RM. Evolution of a clade of Acinetobacter baumannii global clone 1, lineage 1 via acquisition of carbapenem- and aminoglycoside-resistance genes and dispersion of ISAba1. Microb Genom. janv 2019;5(1).

188. Holt K, Kenyon JJ, Hamidian M, Schultz MB, Pickard DJ, Dougan G, et al. Five decades of genome evolution in the globally distributed, extensively antibiotic-resistant Acinetobacter baumannii global clone 1. Microb Genom. févr 2016;2(2):e000052.

189. Douraghi M, Kenyon JJ, Aris P, Asadian M, Ghourchian S, Hamidian M. Accumulation of Antibiotic Resistance Genes in Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Isolates Belonging to Lineage 2, Global Clone 1, from Outbreaks in 2012–2013 at a Tehran Burns Hospital. mSphere. 8 avr 2020;5(2):e00164-20.

190. Nodari CS, Fuchs SA, Xanthopoulou K, Cayô R, Seifert H, Gales AC, et al. pmrCAB Recombination Events among Colistin-Susceptible and -Resistant Acinetobacter baumannii Clinical Isolates Belonging to International Clone 7. mSphere. déc 2021;6(6):e00746-21.

191. Godeux AS, Svedholm E, Barreto S, Potron A, Venner S, Charpentier X, et al. Interbacterial Transfer of Carbapenem Resistance and Large Antibiotic Resistance Islands by Natural Transformation in Pathogenic Acinetobacter. mBio. 25 janv 2022;13(1):e02631-21.

192. Merz AJ, So M, Sheetz MP. Pilus retraction powers bacterial twitching motility. Nature. sept 2000;407(6800):98-102.

193. Skerker JM, Berg HC. Direct observation of extension and retraction of type IV pili. Proceedings of the National Academy of Sciences. 5 juin 2001;98(12):6901-4.

194. Craig L, Forest KT, Maier B. Type IV pili: dynamics, biophysics and functional consequences. Nat Rev Microbiol. juill 2019;17(7):429-40.

195. Anne-Sophie Godeux. Un agent nosocomial humain et animal : étude de la dynamique du transfert de gènes de résistance aux antibiotiques chez Acinetobacter. Microbiologie et Parasitologie. Université de Lyon, 2020.

196. Hepp C, Maier B. Bacterial Translocation Ratchets: Shared Physical Principles with Different Molecular Implementations. BioEssays. 2017;39(10):1700099.

197. Salleh MZ, Karuppiah V, Snee M, Thistlethwaite A, Levy CW, Knight D, et al. Structure and Properties of a Natural Competence-Associated Pilin Suggest a Unique Pilus Tip-Associated DNA Receptor. mBio [Internet]. 11 juin 2019 [cité 19 juill 2022]; Disponible sur: https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.00614-19

198. Hepp C, Maier B. Kinetics of DNA uptake during transformation provide evidence for a translocation ratchet mechanism. Proc Natl Acad Sci U S A. 1 nov 2016;113(44):12467-72.

199. Seitz P, Modarres HP, Borgeaud S, Bulushev RD, Steinbock LJ, Radenovic A, et al. ComEA Is Essential for the Transfer of External DNA into the Periplasm in Naturally Transformable Vibrio cholerae Cells. PLOS Genetics. 2 janv 2014;10(1):e1004066.

200. McQueary CN, Kirkup BC, Si Y, Barlow M, Actis LA, Craft DW, et al. Extracellular stress and lipopolysaccharide modulate Acinetobacter baumannii surface-associated motility. J Microbiol. juin 2012;50(3):434-43.

201. Skiebe E, de Berardinis V, Morczinek P, Kerrinnes T, Faber F, Lepka D, et al. Surface-associated motility, a common trait of clinical isolates of Acinetobacter baumannii, depends on 1,3-diaminopropane. Int J Med Microbiol. juill 2012;302(3):117-28.

202. Henrichsen J. Bacterial surface translocation: a survey and a classification. Bacteriol Rev. déc 1972;36(4):478-503.

203. Corral J, Pérez-Varela M, Sánchez-Osuna M, Cortés P, Barbé J, Aranda J. Importance of twitching and surface-associated motility in the virulence of Acinetobacter baumannii. Virulence. 12(1):2201-13.

204. Harding CM, Tracy EN, Carruthers MD, Rather PN, Actis LA, Munson RS. Acinetobacter baumannii Strain M2 Produces Type IV Pili Which Play a Role in Natural Transformation and Twitching Motility but Not Surface-Associated Motility. mBio. 6 août 2013;4(4):e00360-13.

205. Wolfgang M, Lauer P, Park HS, Brossay L, Hébert J, Koomey M. PilT mutations lead to simultaneous defects in competence for natural transformation and twitching motility in piliated Neisseria gonorrhoeae. Mol Microbiol. juill 1998;29(1):321-30.

206. Wu SS, Wu J, Kaiser D. The Myxococcus xanthus pilT locus is required for social gliding motility although pili are still produced. Mol Microbiol. janv 1997;23(1):109-21.

207. Whitchurch CB, Hobbs M, Livingston SP, Krishnapillai V, Mattick JS. Characterisation of a Pseudomonas aeruginosa twitching motility gene and evidence for a specialised protein export system widespread in eubacteria. Gene. 15 mai 1991;101(1):33-44.

208. Welker A, Cronenberg T, Zöllner R, Meel C, Siewering K, Bender N, et al. Molecular Motors Govern Liquidlike Ordering and Fusion Dynamics of Bacterial Colonies. Phys Rev Lett. 11 sept 2018;121(11):118102.

209. Sandkvist M. Biology of type II secretion. Molecular Microbiology. 2001;40(2):271-83.

210. Ng D, Harn T, Altindal T, Kolappan S, Marles JM, Lala R, et al. The Vibrio cholerae Minor Pilin TcpB Initiates Assembly and Retraction of the Toxin-Coregulated Pilus. PLOS Pathogens. 19 déc 2016;12(12):e1006109.

211. Han X, Kennan RM, Parker D, Davies JK, Rood JI. Type IV Fimbrial Biogenesis Is Required for Protease Secretion and Natural Transformation in Dichelobacter nodosus. J Bacteriol. juill 2007;189(14):5022-33.

212. Attaiech L, Olivier A, Mortier-Barrière I, Soulet AL, Granadel C, Martin B, et al. Role of the single-stranded DNA-binding protein SsbB in pneumococcal transformation: maintenance of a reservoir for genetic plasticity. PLoS Genet. juin 2011;7(6):e1002156.

213. Kidane D, Graumann PL. Intracellular Protein and DNA Dynamics in Competent Bacillus subtilis Cells. Cell. 15 juill 2005;122(1):73-84.

214. Nero TM, Dalia TN, Wang JCY, Kysela DT, Bochman ML, Dalia AB. ComM is a hexameric helicase that promotes branch migration during natural transformation in diverse Gram-negative species. Nucleic Acids Research. 6 juill 2018;46(12):6099-111.

215. Dalia AB, Dalia TN. Spatiotemporal Analysis of DNA Integration during Natural Transformation Reveals a Mode of Nongenetic Inheritance in Bacteria. Cell. 12 déc 2019;179(7):1499-1511.e10.

216. Sinha S, Mell J, Redfield R. The availability of purine nucleotides regulates natural competence by controlling translation of the competence activator Sxy. Molecular Microbiology. 2013;88(6):1106-19.

217. Redfield RJ, Cameron ADS, Qian Q, Hinds J, Ali TR, Kroll JS, et al. A Novel CRP-dependent Regulon Controls Expression of Competence Genes in Haemophilus influenzae. Journal of Molecular Biology. 8 avr 2005;347(4):735-47.

218. Antonova ES, Bernardy EE, Hammer BK. Natural competence in Vibrio cholerae is controlled by a nucleoside scavenging response that requires CytR-dependent anti-activation. Molecular Microbiology. 2012;86(5):1215-31.

219. Bossé JT, Sinha S, Schippers T, Kroll JS, Redfield RJ, Langford PR. Natural competence in strains of Actinobacillus pleuropneumoniae. FEMS Microbiology Letters. 1 sept 2009;298(1):124-30.

220. Lorenz MG, Wackernagel W. High Frequency of Natural Genetic Transformation of Pseudomonas stutzeri in Soil Extract Supplemented with a Carbon/Energy and Phosphorus Source. Applied and Environmental Microbiology. avr 1991;57(4):1246-51.

221. Porstendörfer D, Gohl O, Mayer F, Averhoff B. ComP, a Pilin-Like Protein Essential for Natural Competence in Acinetobacter sp. Strain BD413: Regulation, Modification, and Cellular Localization. Journal of Bacteriology. juill 2000;182(13):3673-80.

222. Hu Y, He L, Tao X, Meng F, Zhang J. High DNA Uptake Capacity of International Clone II Acinetobacter baumannii Detected by a Novel Planktonic Natural Transformation Assay. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2019 [cité 15 sept 2022];10. Disponible sur: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02165

223. Glover JS, Browning BD, Ticer TD, Engevik AC, Engevik MA. Acinetobacter calcoaceticus is Well Adapted to Withstand Intestinal Stressors and Modulate the Gut Epithelium. Frontiers in Physiology [Internet]. 2022 [cité 27 sept 2022];13. Disponible sur: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.880024

224. Jiang R, Wu X, Xiao Y, Kong D, Li Y, Wang H. Tween 20 regulate the function and structure of transmembrane proteins of Bacillus cereus: Promoting transmembrane transport of fluoranthene. Journal of Hazardous Materials. 5 févr 2021;403:123707.

225. Jacobs AC, Thompson MG, Black CC, Kessler JL, Clark LP, McQueary CN, et al. AB5075, a Highly Virulent Isolate of Acinetobacter baumannii, as a Model Strain for the Evaluation of Pathogenesis and Antimicrobial Treatments. mBio. 27 mai 2014;5(3):e01076-01014.

Annexes

Annexe 1 : liste des souches bactériennes utilisées.

Nom de la souche	Génotype/commentaire	Référence/ source
AB5075 WT	*A. baumannii MDR* sauvage	(225)
*att*Tn*7::sacB aac4 Pst-gfp*	*att*Tn*7::sacB aac4 Pst-gfp*	A. Chassard
*att*Tn*7::sacB aac4 Pst-lacZ*	*att*Tn*7::sacB aac4 Pst-lacZ*	A. Chassard
dprA-gfp	*att*Tn*7::dprA-gfp*	A. Chassard
dprA-lacZ	*att*Tn*7::dprA-lacZ*	A. Chassard
recA-gfp	*att*Tn*7::recA-gfp*	A. Chassard
recA-lacZ	*att*Tn*7::recA-lacZ*	A. Chassard
comEA-gfp	*att*Tn*7::mazG-comEA-gfp*	A. Chassard
comEA-lacZ	*att*Tn*7::mazG-comEA-lacZ*	A. Chassard
comM-gfp	*att*Tn*7::comM-gfp*	A. Chassard
comM-lacZ	*att*Tn*7::comM-lacZ*	A. Chassard
comF-gfp	*att*Tn*7::recG-comF-gfp*	A. Chassard
comF-lacZ	*att*Tn*7::recG-comF-lacZ*	A. Chassard
comEC-gfp	*att*Tn*7::comEC-gfp*	A. Chassard
comEC-lacZ	*att*Tn*7::comEC-lacZ*	A. Chassard
ssb-gfp	*att*Tn*7::ssb-gfp*	A. Chassard
ssb-lacZ	*att*Tn*7::ssb-lacZ*	A. Chassard
pilA-lacZ	*att*Tn*7::pilA-lacZ*	A. Camilli
pilA-gfp	*att*Tn*7::pilA-gfp*	A. Camilli
pilA-gfp Δ*comEC::aac4*	*att*Tn*7::pilA-gfp* Δ*comEC::aac4*	A. Camilli
pilA-gfp Δ*pilA*	*att*Tn*7::pilA-gfp* Δ*pilA*	A. Camilli

Annexe 2 : composition des milieux utilisés

Nom du milieu	Composition exacte	Commentaire
Lysogeny Broth (LB)	NaCl 5g/L Tryptone 10 g/L Extrait de levure 5 g/L	Milieu non-sélectif riche contenant des peptides, des acides aminés, des hydrates de carbone et une faible concentration en sel
Tryptone	Tryptone 5 g/L	Milieu non-sélectif plus pauvre que le LB, contenant des peptides et acides aminés issus de la dégradation de la caséine
Minimal Medium Acetate (MMA)	KH_2PO_4 10 g/L Na_2HPO_4 5 g/L $(NH_4)_2SO_4$ 2 g/L $MgSO_4.7H_2O$ 0,2 g/L $CaCl_2.2H_2O$ 0,001 g/L $FeSO_4.7H_2O$ 0,001 g/L Acétate de sodium ou acétate de potassium, 0,1%	Milieu non sélectif minimal, auquel on ajoute du glucose dans certaines expériences
M63	$(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L KH_2PO_4 6,8 g/L $FeSO_4.7H_2O$ 0,00025 g/L	Milieu non sélectif minimal
Milieu de sélection	LB + apramycine 30 µg/µl	Sélection des recombinants
Milieu de contre-sélection	M63 + 10% saccharose	Contre-sélection des recombinants des expériences de transformation

Annexe 3 : oligonucléotides utilisés lors de cette étude

Construction génétique	Nom	Séquence de 5' à 3'	ADN matrice ; site d'hybridation
Modifications chromosomiques par PCR d'extensions chevauchantes			
*att*Tn*7::sacB_aac_Pst-gfp*	oac-6	tggtaatggagcaacagtcg	ADN génomique d'AB5075 ; 2kb en amont du site *att*Tn*7* à la fin du gène *glmU* d'AB5075
	oac-7B	ggaacttcgaagcagctccagcctacacaatcctgacttcggctacacatctagaattg	ADN génomique d'AB5075 ; site 5S-terminateur proche d'*att*Tn7, en aval du terminateur du gène *glmS* d'AB5075, et adaptateur
	oac-8B	gaactaaggaggatattcatatggaccatggcgtgatcttagggggtgataattctg	ADN génomique d'AB5075, site terminateur de *filA* proche d'*att*Tn7, et adaptateur
	oac-9	aaacgctagaacgagacggg	ADN génomique d'AB5075 ; 2kb en aval du site *att*Tn7 dans l'ADN génomique d'AB5075
	oac-4B	gattgtgtaggctggagctgcttcgaagttcctattctaaacaccccaatctcaaaagag	Hybridation à pAC-2, partage une séquence commune avec oac-4 (terminateur partiel et adaptateur)
	oac-5B	gccatggtccatatgaatatcctccttagttcaagtatttataaagagcgcgtttatacg	Hybridation à pAC-2, partage une séquence commune avec oac-5 (terminateur partiel et adaptateur)
	oac-13	atagtgaacggcaggtatatgtgatgggtg	ADN génomique d'AB5075 *att*Tn7::*sacB-aac-Pst-gfp*, hybridation sur le gène *sacB* en aval du terminateur 5S.
	oac-14	cacaggaaacagaattcgagctcggtaccc	ADN génomique d'AB5075 *att*Tn7::*sacB-aac-Pst-gfp*, hybridation sur le site de fixation du ribosome (RBS) de *gfp*
*att*Tn*7::sacB_aac_Pst-lacZ*	oac-4B	gattgtgtaggctggagctgcttcgaagttcctattctaaacaccccaatctcaaaagag	Hybridation à pAC-2, partage une séquence commune avec oac-4 (terminateur partiel et adaptateur), en amont du gène *sacB*
	oac-10	aagtatttataaagagcgcgtttatacgcgctctttatttatcttttatttttgacaccagaccaactggtaatggtagcg	ADN génomique d'*E.coli* MG1655 ; amorce antisens pour amplification du gène *lacZ*, avec terminateur *filA*

	oac-11	cccggggatcctctagatttaagaaggagatatacatatgaccatgattacggattcactggcc	ADN génomique d'*E.coli* MG1655 ; amorce sens pour amplification du gène *lacZ*
	oac-12	atgtatatctccttcttaaatctagaggatccccggg	Hybridation à pAC2, en aval du promoteur *Pst*
	oac-6	tggtaatggagcaacagtcg	ADN génomique d'AB5075 ; 2kb en amont du site *att*Tn*7* à la fin du gène *glmU* d'AB5075
	oac-7B	ggaacttcgaagcagctccagcctacacaatcctgacttcggctacacatctagaattg	ADN génomique d'AB5075, site 5S-terminateur proche d'*att*Tn7, en aval du terminateur *glmS* d'AB5075, et adaptateur
	oac-8B	gaactaaggaggatattcatatggaccatggcgtgatcttagggggtgataattctg	AND génomique d'AB5075, site terminateur de *filA* proche d'*att*Tn7, et adaptateur
	oac-9	aaacgctagaacgagacggg	ADN génomique d'AB5075 ; 2kb en aval du site *att*Tn7
Gène *ssb* et sa région promotrice	oac-15	cacccatcacatatacctgccgttcactataatccagtcgaaagccaccgctatg	ADN génomique d'AB5075 ; 436 nucléotides (nt) en amont du cadre de lecture ouvert (ORF) du gène *ssb*
	oac-16	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgttagaacggtaaatcgtcgtc	ADN génomique d'AB5075 ; en aval de *ssb* avant son terminateur de transcription
Gène *dprA* et sa région promotrice	oac-21	cacccatcacatatacctgccgttcactattgacgataagctgaatatgacgatc	ADN génomique d'AB5075 ; 1478nt en amont de l'ORF de *dprA*
	oac-22	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgcaaacagaatcgctattgtgcgctc	ADN génomique d'AB5075; en aval de *dprA* avant son terminateur de transcription
Gène *comEA* et sa région promotrice	oac-17	cacccatcacatatacctgccgttcactattgcgccactaatcagaatgctatgtttcatc	ADN génomique d'AB5075 ; 924nt en amont de l'ORF de *comEA* (150 nucléotides en amont de *mazG*)
	oac-18	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtggcgcaggaaatgataattgacgaatagaact	ADN génomique d'AB5075 ; en aval de *comEA* avant son terminateur transcriptionnel
Gène *comEC* et sa région promotrice	oac-19	cacccatcacatatacctgccgttcactattgcatatggaagatgggctgtgggtaaacggt	ADN génomique d'AB5075 ; 124 nt en amont de l'ORF de *comEC*
	oac-20	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgtccgacagaagcacttaaaattgtggataggctcaaagc	ADN génomique d'AB5075 ; en aval de *comEC* avant son terminateur transcriptionnel

Gène *comF* et sa région promotrice	oac-27	cacccatcacatatacctgccgttcactatccttcaacagtactatcgtctggag	ADN génomique d'AB5075 ; 238 nt en amont de l'ORF de *recG*
	oac-28	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgtgtaattccgtggtgtgagcagaacttatc	ADN génomique d'AB5075; en aval de *comF* avant son terminateur de transcription
Gène *comM* et sa région promotrice	oac-25	cacccatcacatatacctgccgttcactatccttcggcttcttttcaccagtaag	ADN génomique d'AB5075 ; 272 nt en amont de l'ORF de ABUW_3656
	oac-26	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgttaagagtgattacctcgataagagagtgc	ADN génomique d'AB5075 ; en aval de *comM* avant son terminateur transcriptionnel
Gène *recA* et sa région promotrice	oac-23	cacccatcacatatacctgccgttcactataacgtcgagttgtgtcgcactcaca	ADN génomique d'AB5075 ; 144 nt en amont de l'ORF de *recA*
	oac-24	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgccgaagggcgttttatgactcatgtataattacg	ADN génomique d'AB5075 ; en aval de *recA* avant son terminateur de transcription
Gène *filA* et sa région promotrice	mlo-142	cacccatcacatatacctgccgttcactataagcggtagttacaggagttcagc	ADN génomique d'AB5075 ; 450nt en amont de *pilA*
	mlo-143	gggtaccgagctcgaattctgtttcctgtgcttatgctgcagggcaagcagaac	ADN génomique d'AB5075 ; codon-stop de *pilA*
Amorces pour la construction de pAC-1			
sacB_aac	mlo-86	gattgtgtaggctggagctgcttcgaagttcctcacccatcacatatacctgccgttcac	Hybridation sur pMHL2 (181)
	oac-1	ccgcgggattacaggttggatgataagtc	
Pst-gfp	oac-2	tatcatccaacctgtaatcccgcggggcgaaaatcctgtttgatggtgg	Hybridation sur pASG1 (181)
	oac-3	gccatggtccatatgaatatcctccttagttcttatttgtagagctcatccatgccgtgc	
Amorces pour la construction de pAC-2			
Ajout des terminateurs à la cassette *sacB-apraR-gfp*	oac-4	tattctaaacaccccaatctcaaaagaggttggggtgtttttttatatcacccatcacatatacctgccgttcac	Hybridation sur pAC1, ajout du terminateur 5S au gène *sacB*
	oac-5	aagtatttataaagagcgcgtttatacgcgctctttatttatcttttatttgtagagctcatccatgccgtgc	Hybridation sur pAC1, ajout du terminateur *filA* sur le gène *gfp*

Annexe 4 : composition de la plaque Biolog Gen III

Contrôles	Sucres et dérivés	Acides aminés	Acides	Sels	Antibiotiques	Autres
Contrôle négatif	Dextrine	D-Sérine	Acide D-galacturonique	1% NaCl	Acide fusidique	pH 6
Contrôle positif	D-Maltose	Acide D-Aspartique	Acide lactone L-galactonique	4% NaCl	Troléandomycine	pH 5
	D-Tréhalose	Glycyl-L-Proline	Acide D-gluconique	8% NaCl	Rifampicine SV	Lactate de sodium 1%
	D-Cellobiose	L-Alanine	Acide D-glucuronique		Minocycline	Glycérol
	Gentiobiose	L-Arginine	Glucuronoamide		Lincomycine	Gélatine
	Saccharose	Acide L-aspartique	Acide mucique		Vancomycine	Guanidine HCl
	D-Turanose	Acide L-glutamique	Acide quinique		Aztréonam	Niaproof 4
	Stachyose	L-histidine	Acide D-saccharique		Acide nalidixique	Pectine
	D-Raffinose	Acide L-pyroglutamique	Acide p-hydroxy-phénylacétique			Tetrazolium violet
	α-D-Lactose	L-Sérine	Acide D-lactique méthyl ester			Tetrazolium Bleu
	D-Mélibiose		Acide L-lactique			Chlorure de lithium
	β-méthyl-D-Glucoside		Acide citrique			Tellurite de potassium
	N-acetyl-D-glucosamine		Acide α-cétoglutarique			Tween 40
	N-acetyl-β-D-mannosamine		Acide D-malique			Butyrate de sodium
	N-acetyl-D-galactosamine		Acide L-malique			Bromate de sodium
	N-acetyl Neuraminic acid		Acide bromo-succinique			Méthylpryruvate
	α-D-Glucose					
	D-Mannose		Acide γ-aminobutyrique			
	D-Fructose		Acide α-hydroxybutyrique			
	D-Galactose		Acide β-hydroxy-D,L butyrique			
	3-Methylglucose		Acide α-cétobutyrique			
	D-Fucose		Acide acétoacétique			
	L-Fucose		Acide propionique			
	L-Rhamnose		Acide acétique			
	Inosine		Acide formique			

	D-Sorbitol D-Mannitol D-Arabitol myo-Inositol D-Glucose-6-PO4 D-Fructose-6-PO4 D-Salicine					

ACINETOBACTER BAUMANNII, UNE BACTÉRIE MULTIRÉSISTANTE OPPORTUNISTE : ÉTAT DES LIEUX ET ÉTUDE DE L'EXPRESSION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA TRANSFORMATION BACTÉRIENNE

Auteur

CAMILLI Adrien

Résumé

Responsable de 2 à 10% des infections nosocomiales en Europe et aux Etats-Unis, *Acinetobacter baumannii* est une bactérie caractérisée par une importante capacité à acquérir des résistances aux antibiotiques via différents mécanismes, dont le transfert horizontal de gènes et, en particulier, la transformation bactérienne, la rendant très difficile à contrôler.

L'objectif de cette thèse est d'étudier les conditions d'expression de gènes impliqués dans le mécanisme de transformation bactérienne chez *A. baumannii*. Grâce à la construction d'une plateforme d'expression chromosomique, nous avons mis en évidence que le gène *pilA*, codant un constituant majeur de l'appendice de captation de l'ADN exogène, présentait une expression singulière et dépendante de la richesse nutritionnelle du milieu ainsi que de sa composition en sels.

Mots-clés

Antibiorésistance, Transformation bactérienne, Infections nosocomiales, Antibiothérapie, Bactéries multirésistantes

Jury

Président du jury	:	**Pr**	**JARRAUD Sophie**
Directeur de thèse	:	**Dr**	**LAABERKI Maria-Halima**
1er assesseur	:	**Dr**	**LAABERKI Maria-Halima**
2ème assesseur	:	**Pr**	**ABITBOL Marie**

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup