

Introduction

L'utilisation abusive des antibiotiques a fait que la résistance bactérienne soit devenue une menace de plus en plus sérieuse. La thérapie utilisant les bactériophages offre de nouvelles alternatives thérapeutiques permettant une meilleure prise en charge des infections à bactéries multirésistantes aux antibiotiques. L'objectif de l'étude est d'isoler des bactériophages à activité lytique puissante contre des souches cliniques d'*A. baumannii* après avoir identifié les gènes à l'origine de résistance aux antibiotiques chez cette espèce.

Matériels et méthodes

Isolement des souches d'*A. baumannii*

Nous avons sélectionné 10 souches d'*A. baumannii* responsable d'infection invasives chez des patients hospitalisés en réanimation médicale. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM-2023 par la méthode de diffusion en milieu gélosé. La sensibilité à la colistine est réalisée selon le test UMIC colistin, Biocentric.

Extraction de l'ADN génomique, séquençage et identification des gènes de résistance chez d'*A. baumannii*

L'ADN génomique a été extrait en utilisant l'automate GenProof croBEE 201A. Le séquençage a été réalisé sur une plateforme Illumina MiSeq. L'analyse des gènes de résistance a été effectuée selon la base de donnée 'Comprehensive Antibiotic Resistance Database' (CARD) et le logiciel 'Resistance Gene Identifier (RGI)'

Isolement et purification des bactériophages

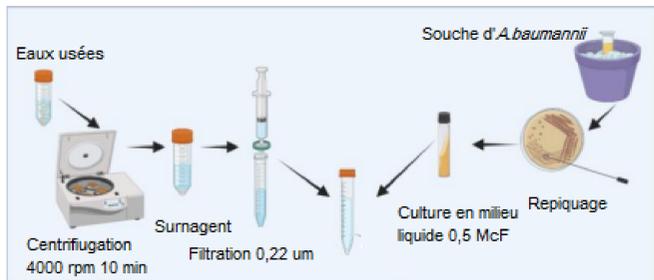


Figure 1: Protocole d'extraction et d'isolement des bactériophages à partir des eaux usées

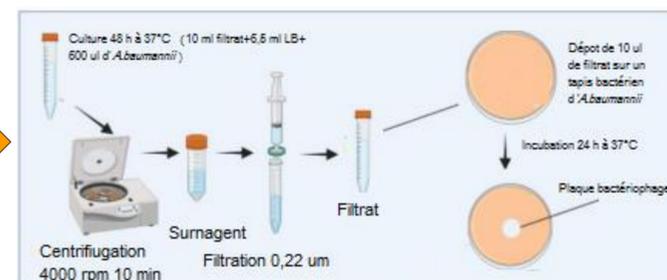


Figure 2: Sélection et identification des plaques de bactériophages

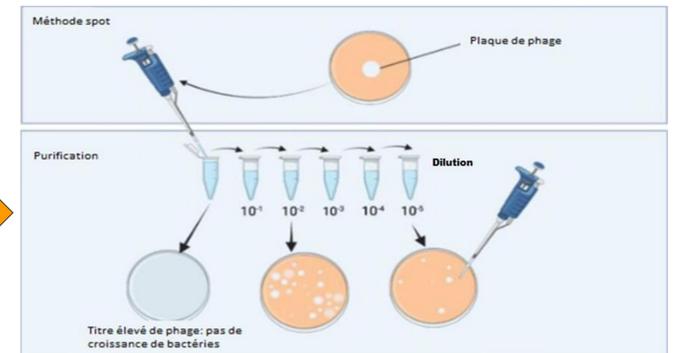


Figure 3: Purification des bactériophages

Résultats et Discussion

➔ L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*A. baumannii* a montré une résistante à toutes les β -lactamines, imipénème y compris, aux aminoglycosides, aux fluoroquinolones et aux cyclines et sont sensibles seulement à la colistine.

➔ L'analyse bioinformatique a montré une association de plusieurs gènes de résistance chez les différentes souches d'*A. baumannii*. Ces souches disposent des gènes OXA-23 et OXA-66 qui sont majoritairement présents chez cette espèce et qui sont impliqués dans la résistance aux carbapénèmes. En effet, la carbapénémase OXA-23 est la première enzyme identifiée chez l'espèce *A. baumannii* [1]. Pour l'enzyme OXA-66, une étude récente a montré qu'elle hydrolyse de façon spécifique l'imipénème [2]. De plus, la présence des gènes *gyrA* et *parC* confèrent la résistance aux fluoroquinolones.

Gènes de résistance	Famille des gènes de résistance	Classe d'antibiotique	Mécanisme de résistance	Critère RGI
OXA-23, OXA-66	OXA beta-lactamase	Carbapenème, céphalosporine, pénicillines	Inactivation d'antibiotique	strict
ADC-73	ADC beta-lactamase sans carbapénémase activité	Céphalosporine	Inactivation d'antibiotique	Parfait
<i>gyrA</i>	ADN gyrase <i>gyrA</i>	Fluoroquinolone	Altération de la cible	strict
<i>parC</i>	Enzyme topoisomérase IV <i>parC</i>	Fluoroquinolone	Altération de la cible	strict
ANT(3'')-IIC	Enzyme nucléotidyltransférases ANT(3'')	Aminoglycoside	Inactivation d'antibiotique	strict
APH(6)-Id	Enzyme phosphotransférases APH(6)	Aminoglycoside	Inactivation d'antibiotique	strict
APH(3'')-Ib	Enzyme phosphotransférases APH(3'')	Aminoglycoside	Inactivation d'antibiotique	strict
<i>armA</i>	16S rRNA méthyltransferase (G1405)	Aminoglycoside	Altération de la cible d'antibiotique	Parfait
<i>catA1</i>	Chloramphenicol acetyltransferase (CAT)	Phénicolés	Inactivation d'antibiotique	Parfait
<i>sul1</i>	Résistance au sulfonamide <i>sul</i>	Sulfonamide	Remplacement de la cible	Parfait
<i>AbaF</i>	Pompe d'exclusion de la superfamille des facilitateurs majeurs (MFS)	Acide phosphonique	Pompe d'exclusion	Parfait
<i>AbaQ</i>	Pompe d'exclusion de la superfamille des facilitateurs majeurs (MFS)	Fluoroquinolone	Pompe d'exclusion	Parfait
<i>adeA, adeC, adeR</i>	Pompe d'exclusion de résistance-nodulation et division cellulaire (RND)	Glycylcycline, tétracycline	Pompe d'exclusion	Parfait
<i>adeF, adeG, adeH, adeL</i>	Pompe d'exclusion de résistance-nodulation et division cellulaire (RND)	Fluoroquinolone, tétracycline	Pompe d'exclusion	strict
<i>adeJ, adeK, adeI, adeN</i>	Pompe d'exclusion de résistance-nodulation et division cellulaire (RND)	Macrolide, fluoroquinolone, lincosamide, carbapenème, céphalosporine, tétracycline, rifamycine, diaminopyrimidine, phénicol, pénicilline	Pompe d'exclusion	strict
<i>abeS</i>	Petite pompe d'exclusion multi-antibiotique résistant (SMR)	Macrolide, aminocoumarin	Pompe d'exclusion	Parfait
<i>Acinetobacter baumannii AmvA</i>	Pompe d'exclusion de la superfamille des facilitateurs majeurs (MFS)	Macrolide, Agents désinfectants et antiseptiques	Pompe d'exclusion	strict
<i>qacEdelta1</i>	Pompe d'exclusion de la superfamille des facilitateurs majeurs (MFS)	Agents désinfectants et antiseptiques	Pompe d'exclusion	Parfait
<i>tet(B)</i>	Pompe d'exclusion de la superfamille des facilitateurs majeurs (MFS)	Tétracycline	Pompe d'exclusion	strict
<i>tetR</i>	Pompe d'exclusion de la superfamille des facilitateurs majeurs (MFS)	Tétracycline antibiotique	Altération de la cible d'antibiotique, pompe d'exclusion	strict
<i>LpsB</i>	Peptide intrinsèque résistant aux antibiotiques Lps	Peptide	Perméabilité réduite aux antibiotiques	Strict

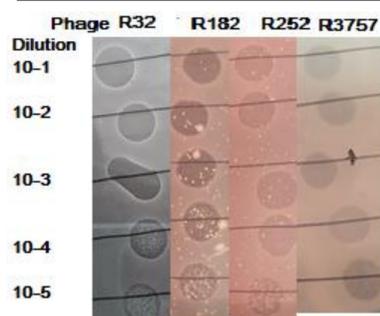


Figure 4: Phagogramme des phages sur milieu lysogène solide (LB)

Activité lytique des bactériophages isolés

Quatre phages ont été isolés à partir des eaux usées et présentent une activité lytique contre les souches testées. Ces phages gardent leurs activités lytiques jusqu'à une dilution de 10^{-5} .

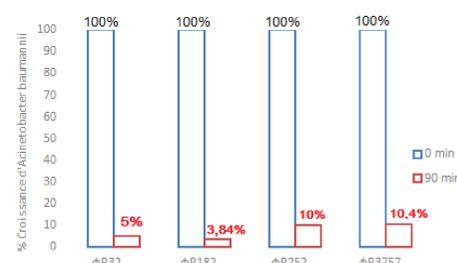


Figure 5: Pourcentage de croissance d'*A. baumannii* après 90 min d'incubation avec les phages

La croissance bactérienne à une température de 37°C et après 90 minutes d'incubation avec les phages isolés a été réduite de 89 à 96%. Ces pourcentages d'inhibition de croissance sont supérieurs à ceux obtenus par le phage pIsfABO2 (70%) dans le travail publié par (Sharareh Moghim, et al, 2022) [4].

Conclusion

Les souches d'*A. baumannii* isolées présentent plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques. Les phages ont montré une bonne activité lytique contre les souches multirésistantes d'*A. baumannii*. Cette étude met en évidence un traitement alternatif prometteur des infections causées par les bactéries multirésistantes aux antibiotiques.

Références

- [1] Paton, R., Miles, R.S., Hood, J., Amyes, S.G.B., Miles, R.S., Amyes, S.G.B., ARI 1: β -lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Int. J. Antimicrob. Agents. 1993. 2, 81-87.
- [2] Wensi S. H., Shu-M Y, Chang-P F, Yi-P H, Chang-P L, and Jing-F L. An OXA-66/OXA-51-Like Carbapenemase and Possibly an Efflux Pump Are Associated with Resistance to Imipenem in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2007, 3844-3852
- [3] Hamouda, A., Amyes, S.G.B. Novel *gyrA* and *parC* point mutations in two strains of *Acinetobacter baumannii* resistant to ciprofloxacin. J. Antimicrob. Chemother. 2004. 54, 695-696
- [4] Behnam S, Arezoo M, VajIK, Nafiseh H, Mehdi S and Sharareh M. The characteristic and potential therapeutic effect of isolated multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* lytic phage. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2022 21:1